

**STUDI TERAPI *Virgin Coconut Oil* (VCO) DENGAN PENGASAMAN
JERUK NIPIS TERHADAP HEWAN MODEL NOSOKOMIAL
DILIHAT DARI KADAR RELATIF IL-1 DAN
JUMLAH SEL FIBROBLAS**

SKRIPSI

Oleh:

FITRI INDAH PERMATASARI

145130101111005



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**STUDI TERAPI *Virgin Coconut Oil* (VCO) DENGAN PENGASAMAN
JERUK NIPIS TERHADAP LUKA INSISI HEWAN MODEL NOSOKOMIAL
DILIHAT DARI KADAR RELATIF IL-1 DAN
JUMLAH SEL FIBROBLAS**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

FITRI INDAH PERMATASARI

145130101111005



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Studi Terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan Pengasaman Jeruk Nipis terhadap Luka Insisi Hewan Model Nosokomial dilihat dari Kadar Relatif IL-1 dan Jumlah Sel Fibroblas

Oleh :

FITRI INDAH PERMATASARI

145130101111005

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 28 Juni 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Drh. Djoko Winarso, MS.

NIP. 19530605 198403 1 001

drh. Dahliatul Qosimah, Mkes.

NIP. 1982012720150 2 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fitri Indah Permatasari

NIM : 145130101111005

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Studi Terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan Pengasaman Jeruk Nipis terhadap Luka Insisi Hewan Model Nosokomial dilihat dari Kadar Relatif Il-1 dan Jumlah Sel Fibroblas

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juni 2018
Yang Menyatakan,

FITRI INDAH PERMATASARI
NIM. 145130101111005

**Studi Terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan Pengasaman Jeruk Nipis
terhadap Luka Insisi Hewan Model Nosokomial dilihat dari Kadar Relatif IL-1
dan Jumlah Sel Fibroblas**

ABSTRAK

Infeksi nosokomial merupakan infeksi lokal maupun sistemik akibat agen infeksi atau toksin bakteri yang didapat di rumah sakit, termasuk rumah sakit hewan. Infeksi nosokomial pada luka sering di sebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. *Virgin Coconut Oil* (VCO) memiliki kandungan *Fatty Acid* terutama asam laurat yang bersifat antibakteri, mempercepat proliferasi fibroblast dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek terapi VCO pada hewan model nosokomial terhadap kadar relatif IL-1 dan fibroblas. Hewan coba penelitian ini menggunakan mencit (*Mus muskullus*) BALB/c jantan yang di aklimatisasi selama tujuh hari, insisi hari ke-8 dan diinfeksi menggunakan benang yang terkontaminasi bakteri *S. aureus* pada hari ke-8. Terdapat lima kelompok yaitu K1 kontrol positif (dijahit dan diinfeksi *S. aureus*, K2 kontrol negatif (dijahit dan diberi antibiotik), dan kelompok yang diinsisi, diinfeksi *S. aureus* dan diterapi VCO yaitu K3 (1x sehari), K4 (2x sehari), K5 (3x sehari). Pemberian VCO dilakukan selama 14 hari secara topikal. Perhitungan jumlah fibroblas diamati secara kuantitatif dengan pewarnaan HE dilihat dalam 5 lapang pandang yang di rata-rata lalu dianalisis menggunakan *software IBM SPSS Statistics 19®*. Sedangkan kadar relatif IL-1 diamati secara kuantitatif menggunakan *flowcytometer*. Semua data dianalisis menggunakan *uji one way ANOVA* dan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). ANOVA digunakan untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok, dan dilanjutkan dengan BNJ untuk mengetahui hasil yang paling berbeda nyata. Sedaangkan untuk kesimpulan dari penelitian ini yaitu K3 mampu menurunkan kadar relatif IL-1 yaitu 10.9 dan menaikkan jumlah sel fibroblas secara signifikan sebesar 5.5. Terapi terbaik yang dapat digunakan sebagai alternatif terapi luka insisi infeksi nosocomial yaitu VCO dengan pemberian 1x sehari. Sehingga *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan pengasaman jeruk nipis terbukti mampu digunakan sebagai terapi luka insisi hewan model nosokomial yang dilihat dari kadar relatif IL-1 dan jumlah sel fibroblast.

Kata kunci : *Luka insisi, Nosokomial, Fibroblas, Sitokin Proinflamasi, Virgin Coconut Oil*

Study of Virgin Coconut Oil (VCO) Therapy with Acid Squeeze to Nosocomial Infection Model seen from Relatif Level of IL-1 and Number of Fibroblasts

ABSTRACT

Nosocomial infection is a local or systemic disease caused by bacterial infection agents or bacterial toxins in the hospital, including veterinary hospitals. Nosocomial infections of the wound are often caused by *Staphylococcus aureus*. Virgin Coconut Oil (VCO) contains Fatty Acid lauric acid which can be antibacterial, accelerate proliferation of fibroblasts and anti-inflammatory. This study aims to determine the effect of VCO therapy on nosocomial model animals on the expression of interleukin 1 (IL-1) and fibroblasts. The experimental animals used mice (*Mus musculus*) BALB / c male in acclimatization for seven days, incision of day 8 and was infected using threads contaminated with *S. aureus* bacteria on day 8. There were five groups of K1 positive controls (stitched and infected with *S. aureus*, K2 negative controls, and infected group, infected with *S. aureus* and treated VCO ie K3 (1x daily), K4 (2x daily), K5 (3x daily) VCO was performed over 14 days topically. Calculation of quantity of fibroblasts was observed quantitatively with HE staining seen in 5 fields of view then analyzed using IBM SPSS Statistics 19® software. Relative levels of IL-1 used flowcytometer. All data were analyzed by using one-way ANOVA test and BNJ test with 95% confidence level ($\alpha = 0,05$). ANOVA is used to know the differences of each group, and then continued with BNJ test to find out the most significant different results. Equal to the conclusion of this study that K3 is able to reduce the relative levels of IL-1 amounted to 10.9 and increase the number of cells fibroblasts significantly amounted to 5.5. The best therapy that can be used as an alternative therapeutic injury nosocomial infections incision is VCO with 1x daily administration. Thus Virgin Coconut Oil (VCO) with acidification of lemon proved able to be used as therapy of nosocomial animal incision wound seen from relative level of IL-1 and number of fibroblast cells.

Keywords: *Wound Incision, Nosocomial, Fibroblasts, Interleukin-1 (IL-1), Virgin Coconut Oil.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga SKRIPSI yang berjudul “**Studi Terapi Virgin Coconut Oil (VCO) dengan Pengasaman Jeruk Nipis terhadap Luka Insisi Hewan Model Nosokomial dilihat dari Kadar Relatif IL-1 dan Jumlah Sel Fibroblas**” ini dapat terselesaikan.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada segenap pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyusunan SKRIPSI ini. Ucapan terimakasih terutama kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya
2. Dr. drh. Djoko Winarso, MS. selaku dosen pembimbing 1 atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, arahan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.
3. drh. Dahliatul Qosimah, Mkes, selaku dosen pembimbing 2 atas segala bantuan, kesempatan, nasihat, bimbingan, arahan serta dukungan yang diberikan kepada penulis.
4. drh. Ahmad Fauzi, M.Sc sebagai penguji 1 yang telah ikut membantu memberikan saran dan bimbingan penelitian.
5. drh. Fidi Nur Aini EPD, M.Si sebagai penguji 2 yang telah ikut membantu memberikan saran dan bimbingan penelitian
6. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Ibu, Bapak, Almarhum nenek dan kakek, serta keluarga besar yang telah memberikan doa, kasih sayang, dukungan, pengorbanan baik secara moril maupun materil kepada penulis selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
7. Teman-teman tim SKRIPSWEET yaitu galuh, Annisa, dan sitmar yang telah memberikan dukungan dan *support* terbaiknya.

8. Sahabat angkatan 2014 terutama kelas D atas segala perhatian, semangat, penghargaan, ajaran, motivasi, dukungan, kebersamaan, dan doa yang telah diberikan dalam meraih mimpi.
9. Teman- teman kost vinolia ayu, galuh, cinta, firda, asa, sarah, nisa, danmbak nanda yang juga ikut membantu proses pembuatan skripsi dengan cara meberikan doa dan ikut membantu meberikan semangatnya
10. Keluarga Muslim Negarawan sebagai sahabat terbaik
11. Keluarga Forum Indonesia Muda Regoinal Malang FIMalang dan keluarga AWEI yang mendukung dan selalu memberikan semangat hingga SKRIPSI ini terselesaikan
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan SKRIPSI ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan SKRIPSI ini masih jauh dari kesempurnaan, maka saran dan kritik yang konstruktif dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya.

Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kulit	6
2.1.1 Anatomi Kulit	6
2.1.2 Fisiologi Kulit	11
2.2 Luka	12
2.2.1 Jenis Luka	12
2.2.2 Proses Penyembuhan Luka	13
2.3 Luka Infeksi Nosokomial	17
2.4 Respon Imunologi pada Luka Infeksi Nosokomial	18
2.5 Interleukin-1 (IL-1)	21
2.6 Fibroblas	25
2.7 <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO) dengan Pengasaman Perasan Jeruk Nipis	26
2.8 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	28
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	31
3.1 Kerangka Konseptual	31
3.2 Hipotesis Penelitian	34
BAB 4. METODE PENELITIAN	35
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	35
4.2 Alat dan Bahan	35
4.3 Tahapan Penelitian	36
4.3.1 Rancangan Penelitian	36
4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian	37
4.3.3 Variabel Penelitian	38

4. 4 Prosedur Kerja	38
4.4.1 Persiapan Hewan Coba.....	38
4.4.2 Pembuatan VCO Menggunakan Pengasaman Perasan Jeruk Nipis	39
4.4.3 Pembuatan Suspensi Bakteri	40
4.4.4 Pembutan Benang Terkontaminasi Bakteri <i>S.aureus</i>	40
4.4.5 Pembutan Infeksi Nosokomial pada Benang	41
4.4.6 Terapi VCO	41
4.4.7 Pengambilan Jaringan Kulit	42
4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit	42
4.4.9 Pengukuran Kadar Relatif IL-1	42
4.5 Analisis Data	43
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	45
5.1 Hasil Pengujian Bakteri <i>S.aureus</i>	45
5.2 Pengaruh Virgin Coconut Oil (VCO) Terhadap Jumlah Fibroblas pada Jaringan Kulit Luka Insiai Mencit (<i>Mus musculus</i>) Model Nosokomial	46
5.3 Pengaruh Terapi Virgin Coconut Oil (VCO) Terhadap Kadar Relatif Interleukin-1 (IL-1) pada Jaringan Kulit Luka Insisi Mencit (<i>Mus musculus</i>) Model Nosokomial.....	53
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	58
6.1 Kesimpulan	58
6.2 Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Fungsi Biologi IL-1	24
5.1 Pemberian notasi pada rata-rata jumlah sel fibroblas	52
5.2 Rata-rata presentase kadar relatif Interleukin-1 (IL-1)	55



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Lapisan Penyusun Kulit	6
2.2 Gambaran Histogis Kulit	10
2.3 Fase Penyembuhan Luka	14
2.4 Fase Inflamasi Penyembuhan Luka	16
2.5 Gambar Hasil Pengamatan Fibroblas	26
2.6 Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	29
5.1 Hasil Pengujian <i>S. aureus</i>	45
5.2 Gambar Mikroskopis Kesembuhan Luka Hari Kedelapan Pasca Operasi	47
5.3 Gambaran histopatologi luka insisi kontrol positif dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE	48
5.4 Gambaran histopatologi kontrol negatif dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE	49
5.5 Gambaran histopatologi luka terapi VCO 1x sehari dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE	49
5.6 Gambaran histopatologi luka terapi VCO 2x sehari dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE	50
5.7 Gambaran histopatologi luka terapi VCO 3x sehari dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE	50
5.8 Histogram rata-rata sel fibroblas pada pemeriksaan dengan pembesaran 400x	51
5.9 Histogram rata-rata kadar relatife IL-1 berdasarkan <i>flowcytometry</i> pada masing-masing kelompok perlakuan.....	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional Penelitian	63
2. Pembuatan Preparat Histopatologi	64
3. Prosedure Pewarnaan Hematoksilen-Eosin	65
4. Prosedur <i>Flowcytometry</i> untuk IL-1	66
5. Pengenceran Berseri <i>S aureus</i>	67
6. Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka pada Hari Kedelapan	68
7. Hasil <i>Flowcytometry</i> Terhadap Kadar Relatif Interleukin-1 (IL-1)	70
8. Perhitungan Statistika Jumlah Sel Fibroblas	74
9. Perhitungan Statistika Kadar Relatif IL-1	76
10. Uji Sensitivitas Antibiotik <i>S. aureus</i>	78
11. Sertifikat Laik Etik	79

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
MRSA	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
IL-1	: Interleukin-1
VCO	: <i>Virgin Coconut Oil</i>
MCFA	: <i>Medium Chain Fatty Acid</i>
HE	: <i>Hematoksilen-Eosin</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor-B</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
LPS	: Lipopolisakarida
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
HAI	: <i>Hospital Acquired Infection</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor- α</i>
PAMP	: <i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
BNF	: <i>Buffer Neutral Formalin</i>
BNJ	: Beda Nyata Jujur
MSA	: <i>Manitol Salt Agar</i>
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
NB	: <i>Nutrient Broth</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Pasca operasi bedah, luka dapat mengalami infeksi nosokomial yang dapat memperlama proses kesembuhan luka. Infeksi nosokomial merupakan infeksi lokal maupun sistemik akibat agen infeksi atau toksin yang didapat di rumah sakit, termasuk rumah sakit hewan (Horran *et al.*, 2008, Milton *et al.*, 2015). Angka insiden klien yang terkena infeksi nosokomial terus meningkat setiap tahunnya. Infeksi nosokomial timbul pada waktu pasien dirawat di rumah sakit dan bersumber dari petugas kesehatan, pasien lain, pengunjung rumah sakit, dan akibat dari prosedur rumah sakit maupun dari lingkungan rumah sakit (Saputra, 2013).

Infeksi nosokomial pada luka operasi ditandai dengan adanya pus, inflamasi, nyeri dan rasa panas. Penyebab infeksi nosokomial pada luka antara lain *Staphylococcus aureus* 20%, *Pseudomonas aeruginosa* 16%, *Coagulase-negative Staphylococci* 15%, *Enterococci*, jamur, *Enterobacter*, dan *Escherichia coli* < 10% (Nasution, 2012). Luka yang terinfeksi dapat menjadi *port d'entry* bagi bakteri yang bersifat *multi-drug resistant*, seperti *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Cl. difficile*, *E. coli*, dan *Salmonella spp.* sehingga sulit untuk diobati (Milton *et al.*, 2015).

Penyembuhan luka merupakan sebuah proses transisi yang merupakan salah satu proses paling kompleks dalam fisiologi manusia yang melibatkan serangkaian reaksi dan interaksi kompleks antara sel dan mediator. Fase peradangan bertujuan

untuk membuang jaringan mati dan mencegah infeksi. Fase proliferasi bercirikan terbentuknya jaringan granulasi yang disertai kekayaan jaringan pembuluh darah baru, fibroblas, dan makrofag dalam jaringan penyangga yang longgar. Fase kedua yang berlangsung sejak hari ke-8 hingga ke-21 pasca luka merupakan fase terjadinya epitelisasi dan sekaligus memberikan refleksi dalam perawatan luka untuk dapat mencapai kondisi luka yang telah tertutup dengan epitel. Fase terakhir adalah fase maturasi yang ditandai adanya keseimbangan antara proses pembentukan dan degradasi kolagen (Prasetyono, 2009).

Fase penyembuhan tersebut diinisiasi, dimediasi, dan diteruskan oleh mediator biokimia berupa sitokin dan *growth factor* (Williams, 2009). Salah satu sitokin yang berperan dalam proses penyembuhan luka ialah Interleukin-1 (IL-1). IL-1 adalah sitokin pro-inflamasi yang menggambarkan adanya inflamasi pada luka (Contassot *et al.*, 2012). Pada saat luka akan terjadi proses inflamasi yang diikuti proses hemostasis untuk membantu pembekuan darah. Hal ini juga diperankan oleh platelet yang mampu menginisiasi beberapa *growth factor* yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi dari sel luka seperti keratinosit dan fibroblas untuk bermigrasi kedalam bagian ruang luka.

Indonesia memiliki keanekaragaman kelapa murni yang dikenal dengan *Virgin Coconut Oil* (VCO). *Virgin Coconut Oil* (VCO) merupakan modifikasi proses pembuatan minyak kelapa sehingga dihasilkan produk dengan kadar air dan kadar asam lemak bebas yang rendah. Komponen utama VCO adalah asam lemak jenuh sekitar 90% dan asam lemak tak jenuh sekitar 10%. Asam lemak jenuh VCO didominasi oleh asam laurat. VCO mengandung $\pm 53\%$ asam laurat dan sekitar 7%

asam kaprilat. Keduanya merupakan asam lemak rantai sedang yang biasa disebut *Medium Chain Fatty Acid* (MCFA). Sedangkan menurut Price (2004) VCO mengandung 92% lemak jenuh, 6% lemak mono tidak jenuh dan 2% lemak poli tidak jenuh (Wardani, 2007). VCO sangat kaya dengan kandungan asam laurat (*laurat acid*) berkisar 50-70 %. Secara umum aksi penghambatan asam-asam organik terhadap pertumbuhan bakteri oleh erat kaitannya dengan kemampuan asam-asam organik yang tidak terdisosiasi untuk menembus membran sel bakteri, lalu mengganggu keseimbangan asam-basa, proton dan produksi energi di dalam sel bakteri (Murhadi, 2009).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui studi terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang diperoleh dari pengasaman jeruk nipis terhadap luka hewan model nosokomial. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar relatif sitokin IL-1 dan pembentukan sel fibroblas. Penelitian ini diharapkan dapat membuat inovasi pengobatan kesembuhan luka infeksi nosokomial pasca operasi yang efektif.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat digunakan sebagai terapi luka insisi hewan model nosokomial dengan menurunkan kadar relatif IL-1?
2. Apakah *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat digunakan sebagai terapi luka insisi hewan model nosokomial dengan meningkatkan jumlah pembentukan fibroblas?

1.3 Batasan Masalah

1. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dengan berat 24.2 ± 3.0 g yang berumur 8 minggu.

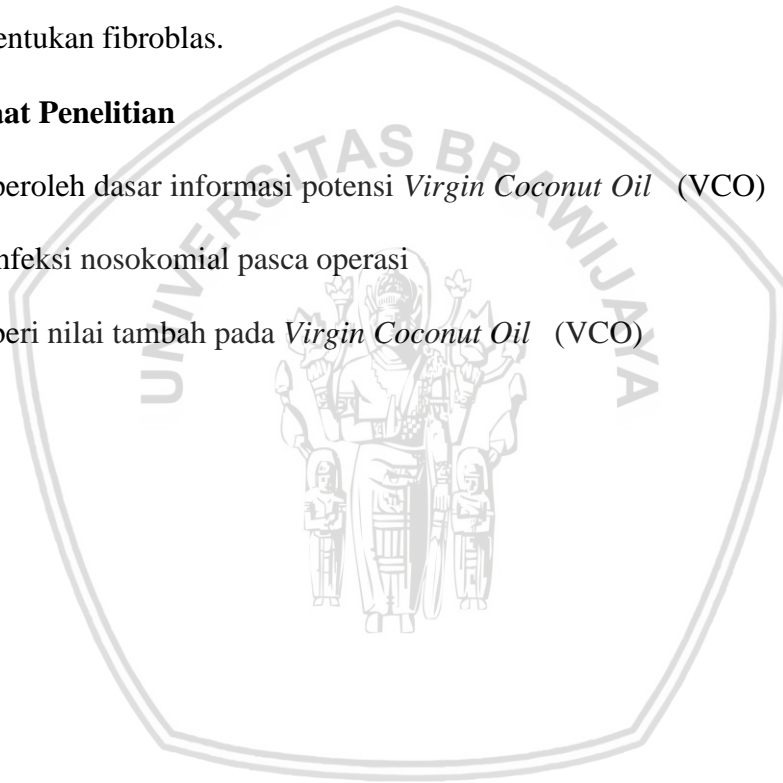
2. Anestesi untuk pembuatan model luka menggunakan kombinasi *Ketamine* HCl (dosis 100 mg/kgBB) dan *Xylazine* (dosis 5 mg/kgBB). Untuk mempermudah injeksi, dilakukan pengenceran *Xylazine* 20 mg/ml sebanyak 0,5 ml dicampur dengan 19,5 ml aqua pro injeksi di dalam vial steril. Selanjutnya, ditambahkan *Ketamine* HCl 100 mg/ml sebanyak 2 ml dicampur dengan 18 ml aqua pro injeksi. Pemberian campuran *Ketamine* HCl – *Xylazine* disuntikkan melalui rute intramuskular masing-masing dengan dosis 0.1 ml/10 gBB (Plumb, 2008).
3. Pembuatan model luka nosokomial dibuat berdasarkan Dai (2011) yang dimodifikasi, yakni dengan membuat insisi *longitudinal midline* sepanjang 2,5 cm pada panniculus carnosus punggung. Luka dijahit dengan benang silk 4/0 dengan panjang 5 cm yang dikontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* (10^5 CFU/ml). Penjahitan dilakukan dengan jarum *tapper* 1/2 GT 35 mm pola *simple continuous suture* secara diagonal pada panniculus carnosus punggung.
4. *Virgin Coconut Oil* (VCO) diperoleh dari hasil perasan kelapa tua segar karena memiliki kandungan asam lemak yang lebih tinggi (Hayati, 2009). yang menghasilkan kanil (krim) dan kemudian diolah dengan metode pengasaman melalui menambahkan perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 1%. Frekuensi terapi VCO yang diberikan yaitu 1 kali dalam sehari, 2 kali dalam sehari dan tiga kali dalam sehari dengan konsentrasi 100% VCO murni.
5. Pengamatan jumlah pembentukan fibroblas dilakukan dengan mengamati preparat histopatologi luka dengan pewarnaan *Hematoksilen-Eosin* (HE)

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui efek terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang dapat digunakan sebagai terapi luka insisi hewan model nosokomial dengan menurunkan kadar relatif IL-1.
2. Untuk mengetahui *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang dapat digunakan sebagai terapi luka insisi hewan model nosokomial dengan meningkatkan jumlah pembentukan fibroblas.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memperoleh dasar informasi potensi *Virgin Coconut Oil* (VCO) sebagai terapi luka infeksi nosokomial pasca operasi
2. Memberi nilai tambah pada *Virgin Coconut Oil* (VCO)



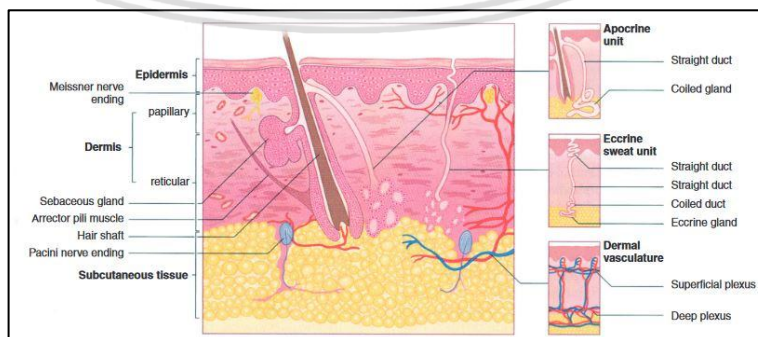
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

2.1.1 Anatomi Kulit

Kulit merupakan organ yang tersusun dari 4 jaringan dasar yaitu jaringan epitel, jaringan ikat, jaringan otot dan jaringan saraf. Kulit memiliki berbagai jenis epitel, terutama epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk. Pembuluh darah pada dermisnya dilapisi oleh endotel. Kelenjar-kelenjar kulit merupakan kelenjar epitelial (**Gambar 2.1**). Jaringan ikat pada kulit terdiri dari beberapa jenis yaitu serat-serat kolagen dan elastin, dan sel-sel lemak pada dermis. Selain itu, jaringan otot yang dapat ditemukan di kulit seperti jaringan otot polos, yaitu otot penegak rambut (*m. arrector pili*) dan pada dinding pembuluh darah, sedangkan jaringan otot bercorak terdapat pada otot-otot ekspresi wajah. Penyusun jaringan lain di kulit yaitu jaringan saraf sebagai reseptor sensoris yang dapat ditemukan pada kulit berupa ujung saraf bebas dan berbagai badan akhir saraf contohnya badan Meissner dan badan Pacini (Kalangi, 2013).



Gambar 2.1 Lapisan penyusun kulit yang terdiri dari epidermis, dermis dan jaringan subkutan (James *et al.*, 2006).

Kulit terdiri dari tiga lapisan: epidermis, dermis, dan jaringan subkutan (Kanitakis, 2002). Tingkat paling luar, epidermis, terdiri dari konstelasi sel tertentu yang dikenal sebagai keratinosit, yang berfungsi untuk mensintesis keratin, protein panjang dan mirip benang dengan peran protektif. Lapisan tengah, dermis, pada dasarnya terdiri dari protein struktural fibrillar yang dikenal sebagai kolagen. Dermis terletak pada jaringan subkutan, atau panniculus, yang mengandung lobus kecil sel lemak yang dikenal sebagai *lipocytes* (James *et al.*, 2006)

1. Epidermis

Epidermis merupakan lapisan paling luar kulit yang terdiri dari epitel berlapis gepeng dan bertanduk. Epidermis hanya terdiri dari jaringan epitel, tidak mempunyai pembuluh darah maupun limfa oleh karena itu semua nutrisi dan oksigen diperoleh dari kapiler yang terdapat pada lapisan dermis. Epitel berlapis gepeng pada epidermis ini tersusun oleh banyak lapis sel yang disebut keratinosit (Kalangi, 2013). Epidermis adalah lapisan yang terus diperbaharui dan menimbulkan struktur turunan, seperti *pilosebaceous*, kuku, dan kelenjar keringat. Sel basal epidermis menjalani siklus proliferasi yang mampu memberikan untuk epidermis luar. (Chu, 2008).

Epidermis terdiri atas secara umum terbagi menjadi lima lapisan yaitu (Kalangi, 2013):

- a. Stratum basal (lapis basal, lapis benih) merupakan paling dalam dan terdiri atas satu lapis sel yang tersusun berderet-deret di atas membran basal dan melekat pada dermis di bawahnya. Sel-selnya terdiri dari sel kuboid atau silindris, Intinya besar, jika dibanding ukuran selnya, dan sitoplasmanya basofilik. Pada lapisan ini dapat terlihat gambaran mitotik sel, sedangkan proliferasi selnya berfungsi untuk

- regenerasi epitel. Sel-sel pada lapisan ini bermigrasi ke arah permukaan untuk memasok sel-sel pada lapisan yang lebih superfisial.
- b. Stratum spinosum (lapis taju) merupakan lapisan yang terdiri atas beberapa lapis sel yang berbentuk poligonal dengan inti lonjong disertai dengan sitoplasmanya berwarna kebiruan. Bila dilakukan pengamatan dengan pembesaran obyektif 45x, maka pada dinding sel yang berbatasan dengan sel di sebelahnya akan terlihat taju-taju yang seolah-olah menghubungkan sel yang satu dengan yang lainnya. Pada taju inilah terletak desmosom yang melekatkan sel-sel satu sama lain pada lapisan ini. Semakin ke atas bentuk sel semakin gepeng.
 - c. Stratum granulosum (lapis berbutir) merupakan lapisan ini terdiri atas 2-4 lapis sel gepeng yang mengandung banyak granula basofilik yang disebut granula keratohialin. Pada pengamatan dengan mikroskop elektron merupakan partikel amorf tanpa membran tetapi dikelilingi ribosom. Mikrofilamen melekat pada permukaan granula.
 - d. Stratum lusidum (lapis bening) merupakan lapisan yang dibentuk oleh 2-3 lapisan sel gepeng yang tembus cahaya, dan agak eosinofilik, tak ada inti maupun organel pada sel-sel lapisan ini.
 - e. Stratum korneum (lapis tanduk) merupakan lapisan ini terdiri atas banyak lapisan sel-sel mati, pipih dan tidak berinti serta memiliki sitoplasman yang digantikan oleh keratin. Sel-sel yang paling permukaan merupakan sisik zat tanduk yang terdehidrasi dan selalu terkelupas.

Sel-sel yang terdapat pada lapisan epidermis yaitu: keratinosit, melanosit, sel Langerhans, dan sel Merkel (James *et al.*, 2006). Keratinosit merupakan sel terbanyak

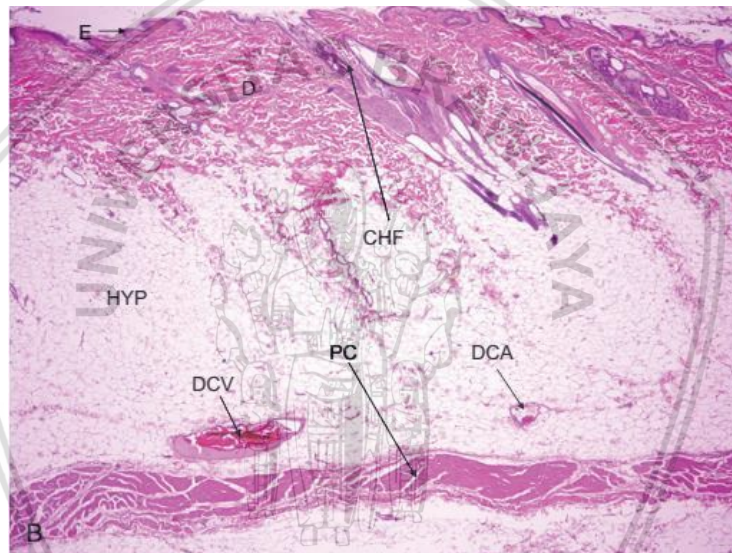
hingga 85-95% dan berasal dari ektoderm permukaan. Merupakan sel epitel yang mengalami keratinisasi, menghasilkan lapisan kedap air dan perisai pelindung tubuh (Chu, 2008). Sel Merkel merupakan sel dengan jumlah sel paling sedikit, berasal dari krista neuralis dan ditemukan pada lapisan basal kulit tebal, folikel rambut, dan membran mukosa mulut (Kalangi, 2013). Melanosit meliputi 7-10% sel epidermis, merupakan sel kecil dengan cabang dendritik panjang tipis dan berakhir pada keratinosit di stratum basal dan spinosum. Sel ini terletak di antara sel pada stratum basal, folikel rambut dan sedikit dalam dermis. Sel langerhans merupakan sel dendritik yang bentuknya ireguler, ditemukan diantara keratinosit dalam stratum spinosum. Sel ini tidak berwarna baik dengan HE (Chu, 2008). Sel ini berperan dalam respon imun kulit serta sel pembawa-antigen yang merangsang reaksi hipersensitivitas tipe lambat pada kulit.

2. Dermis

Dermis terdiri atas stratum papilaris dan stratum retikularis, batas antara kedua lapisan tidak tegas, serat antaranya saling menjalin (Chu, 2008). Dermis kulit terdiri dari stratum papilaris dan stratum retikularis. Stratum papilaris merupakan bagian yang tersusun lebih longgar, ditandai oleh adanya papila dermis yang jumlahnya bervariasi antara 50 – 250/mm². Sebagian besar papila mengandung pembuluh-pembuluh kapiler yang memberi nutrisi pada epitel di atasnya. Stratum retikularis merupakan lapisan yang lebih tebal dan dalam. Berkas-berkas kolagen kasar dan sejumlah kecil serat elastin membentuk jalinan yang padat ireguler. Pada bagian lebih dalam, jalinan lebih terbuka, rongga-rongga di antaranya terisi jaringan lemak, kelenjar keringat dan sebacea, serta folikel rambut. Serat otot polos juga ditemukan

pada tempat-tempat tertentu, seperti folikel rambut, skrotum, preputium, dan puting payudara. Pada kulit wajah dan leher, serat otot skelet menyusupi jaringan ikat pada dermis. Lapisan retikular menyatu dengan hipodermis/*fasia superfisialis* di bawahnya yaitu jaringan ikat longgar yang banyak mengandung sel lemak. Pada lapisan ini terdapat sejumlah yang relatif sedikit berupa sel-sel jaringan ikat seperti fibroblas, sel lemak, sedikit makrofag dan sel mast (James *et al.*, 2006).

3. Hipodermis



Gambar 2.2 Gambaran histologis kulit; E, epidermis; D, dermis; HYP, hipodermis; CHF, compound hair follicle; ERS, external root sheath; SG, kelenjar sebacea; DCA, direct cutaneous artery; DCV, direct cutaneous vein; PC, panniculus carnosus; APM, musculus arrector pili (Pavletic, 2010)

Lapisan hipodermis merupakan sebuah lapisan subkutan di bawah retikularis. Lapisan ini berupa jaringan ikat lebih longgar dengan serat kolagen halus terorientasi terutama sejajar terhadap permukaan kulit, dengan beberapa di antaranya menyatu dengan dermis. Pada daerah tertentu, seperti punggung tangan, lapis ini meungkinkan gerakan kulit di atas struktur di bawahnya. Di daerah lain, serat-serat yang masuk ke

dermis lebih banyak dan kulit relatif sukar digerakkan. Sel-sel lemak lebih banyak pada lapisan ini yang jumlahnya tergantung jenis kelamin dan keadaan gizinya. Lemak subkutan cenderung mengumpul di daerah tertentu. Lapisan lemak ini disebut *pannikulus adiposus* yang dapat diamati pada **Gambar 2.2** (Kalangi, 2013).

2.1.2 Fisiologi Kulit

1. Proteksi

Kulit memiliki fungsi sebagai penghalang (*barrier*) fisik antara jaringan dibawahnya dengan lingkungan eksternal. Selain itu kulit juga memberikan perlindungan dari abrasi, dehidrasi, radiasi ultraviolet, dan invasi bakteri (Gunstream, 2000).

2. Ekskresi

Kulit berfungsi mengeluarkan sisa metabolisme berupa keringat yang berasal dari kelenjar keringat baik dalam jumlah kecil senyawa organik, garam dan air (Gunstream, 2000).

3. Regulasi Suhu

Produksi kelebihan panas oleh tubuh, sekresi keringat dan evaporasi dipermukaan tubuh merupakan langkah untuk menurunkan temperature tubuh selama periode pelepasan panas tubuh. Selain itu juga dilakukan dengan konstriksi dari pembuluh darah yang juga dapat mengurangi panas tubuh (Gunstream, 2000).

4. Persepsi Sensorik

Kulit memiliki beberapa muatan ujung-ujung saraf dan reseptor yang dapat mendeteksi stimulus yang berkaitan dengan sentuhan, tekanan, dan rasa sakit (Gunstream, 2000).

5. Sintesis Vitamin D

Vitamin D terbentuk dari hasil paparan radiasi sinar ultraviolet yang mengkonversikan molekul prekursor yang terdapat pada kulit (Gunstream, 2000).

2.2 Luka

2.2.1 Jenis Luka

Jenis luka berdasarkan tingkat kontaminasinya dibagi menjadi empat kelas, yaitu *clean wounds*, *clean-contaminated wounds*, *contaminated wound*, dan *infected wounds* (Chard, 2008).

1. *Class I - Clean wounds*

Clean wounds atau luka bersih ialah luka pembedahan yang tidak terinfeksi, tidak terjadi inflamasi, dan tidak terekspos isi lumen saluran respirasi, saluran pencernaan, saluran genital, dan saluran urinaria.

2. *Class II – Clean contaminated wounds*

Clean contaminated wounds atau luka bersih terkontaminasi merupakan luka pembedahan yang membuka saluran pernapasan, saluran pencernaan, saluran reproduksi, atau saluran urinaria di bawah kondisi yang terkontrol dan tidak terinfeksi.

3. *Class III – Contaminated wounds*

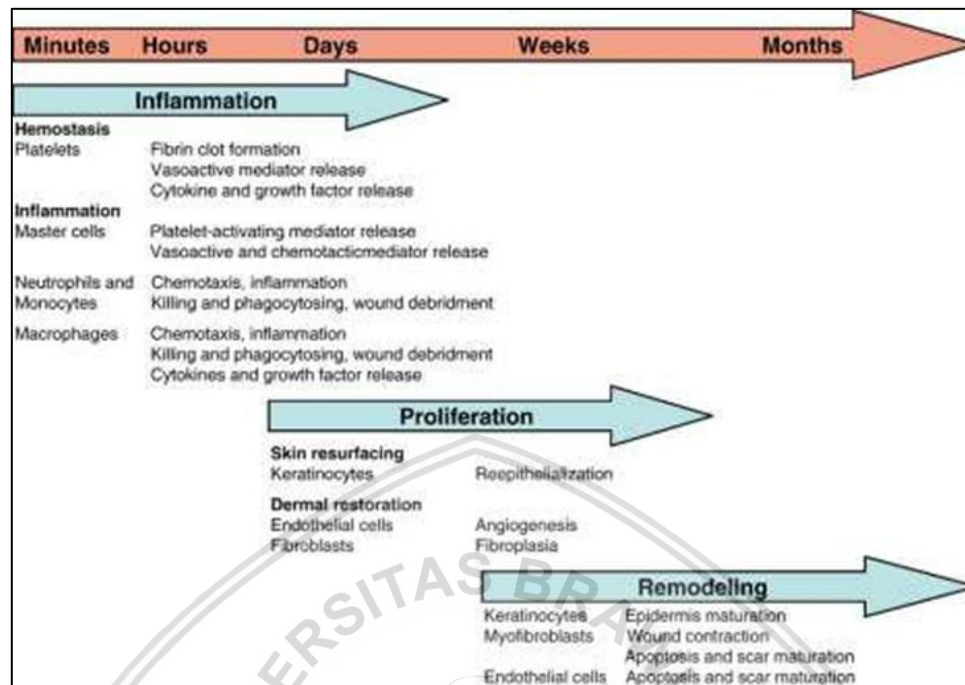
Contaminated wounds atau luka terkontaminasi ialah luka terbuka baru dan disebabkan oleh trauma. Luka terkontaminasi juga dapat terjadi akibat kontaminasi isi saluran pencernaan pada luka pembedahan. Luka terkontaminasi mengalami inflamasi akut non-purulen.

4. *Class IV – Infected wounds*

Infected wounds atau luka terinfeksi merupakan luka traumatik lama yang mengandung jaringan mati dan luka dengan tanda infeksi seperti cairan purulen. Luka ini bisa sebagai akibat pembedahan yang sangat terkontaminasi. Bentuk luka seperti perforasi visera, abses dan trauma lama.

2.2.2 Proses Penyembuhan Luka

Luka merupakan diskontinuitas jaringan yang disebabkan oleh trauma dari luar. Penyembuhan luka merupakan proses tubuh dalam memperbaiki kerusakan jaringan supaya dapat berfungsi kembali. Proses penyembuhan mampu menormalkan kembali semua kondisi abnormal akibat luka. Respon tubuh saat integritas kulit mengalami kerusakan berupa fase yang saling tumpang tindih, tetapi secara biologis dapat dibedakan. Setelah terjadi luka akan dilanjutkan dengan fase inflamasi yang bertujuan untuk menghilangkan jaringan nonvital dan mencegah infeksi bakteri invasif. Kemudian, terjadi fase proliferasi yang mampu membentuk jaringan parut dan regenerasi jaringan (**Gambar 2.3**). Pada fase yang terakhir, terjadi fase *remodelling* yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural luka (Lorentz *et al.*, 2006). Pada setiap fase penyembuhan tersebut terdapat satu jenis sel khusus yang mendominasi.



Gambar 2.3 Fase penyembuhan luka yang terdiri dari fase inflamasi, proliferasi, dan remodelling (Gurtner, 2007)

1. Fase inflamasi

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai kurang lebih hari kelima. Fase ini menjamin terjadinya homeostasis, penghilangan jaringan yang non vital dan mencegah terjadinya infeksi invasif oleh mikroba patogen. Pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan perdarahan sehingga tubuh akan berusaha menghentikannya melalui vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh darah yang putus (retraksi) dan reaksi hemostasis. Hemostasis terjadi karena trombosit keluar dari pembuluh darah dan saling melekat (**Gambar 2.4**). Selain itu hemostatis juga terjadi karena pembentukan jala fibrin dan membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah (Gurtner, 2007).

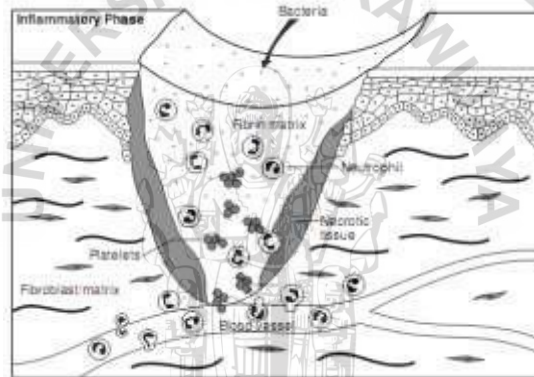
Platelet memiliki berfungsi untuk membentuk bekuan darah serta menghasilkan beberapa *growth factor* berupa *platelet-derived growth factor* (PDGF),

insulin-like growth factor-1 (IGF-1), *epidermal growth factor* (EGF), *fibroblast growth factor* (FGF), dan *transforming growth factor- β* (TGF- β). *Growth factor* tersebut berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi dari sel luka seperti keratinosit dan fibroblas untuk bermigrasi kedalam bagian ruang luka (Werner and Grose, 2003).

Beberapa mediator inflamasi yaitu prostaglandin, *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrosis factor* (TNF), C5a, TGF- β dan produk degradasi bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) yang mampu menarik sel netrofil sehingga menginfiltrasi matriks fibrin dan mengisi kavitas luka (Gambar 2.3). Migrasi netrofil ke luka juga disebabkan oleh peningkatan permeabilitas kapiler akibat terlepasnya serotonin dan histamin oleh sel mast dan jaringan ikat. Netrofil secara umum akan ditemukan pada 2 hari pertama dan berperan penting dalam memfagositosis jaringan mati dan mencegah infeksi. Keberadaan netrofil yang berkepanjangan merupakan penyebab utama terjadinya konversi dari luka akut menjadi luka kronis yang tidak kunjung sembuh (Tanggo, 2013).

Makrofag mengikuti netrofil menuju luka setelah 48-72 jam pertama dan menjadi sel dominan setelah hari ketiga pasca trauma. Makrofag akan memfagositosis debris dan bakteri. Makrofag juga berperan utama dalam memproduksi berbagai *growth factor* yang dibutuhkan untuk produksi matriks ekstraseluler oleh fibroblas dan pembentukan neovaskularisasi. Oleh sebab itu, keberadaan makrofag sangat penting dalam fase penyembuhan ini (Gurtner, 2007). Selain melalui proses fagositosis, netrofil dan makrofag juga berperan dalam eliminasi bakteri dengan cara memproduksi serta melepaskan beberapa *proteinase*

dan *reactive oxygen species* (ROS). ROS dengan sifat radikal bebasnya mampu mencegah infeksi bakteri, namun tingginya kadar ROS secara berkepanjangan juga akan menginduksi kerusakan sel tubuh lainnya. ROS juga mampu mengaktivasi dan mempertahankan kaskade asam arakidonat yang akan memicu ulang timbulnya berbagai mediator inflamasi lagi seperti prostaglandin dan leukotrien, sehingga proses inflamasi akan menjadi berkepanjangan (Lima dkk., 2009). Sedangkan Limfosit dan sel mast merupakan sel terakhir yang bergerak menuju luka dan dapat ditemukan pada hari kelima sampai ketujuh pasca trauma. ini (Gurtner, 2007).



Gambar 2.4 Fase inflamasi penyembuhan luka pada jaringan kulit (Gurtner, 2007)

Fase inflamasi disebut juga *lag phase* atau fase lamban karena reaksi pembentukan kolagen baru sedikit, belum ada *tensile strength*, di mana pertautan luka hanya dipertahankan oleh fibrin dan fibronektin (Tanggo, 2013). Aktivitas seluler yang terjadi ialah pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah (diapedesis) menuju luka karena adanya daya kemotaksis. Leukosit tersebut mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna bakteri dan kotoran luka. Limfosit dan monosit kemudian muncul dan ikut menghancurkan serta memakan kotoran luka dan bakteri (fagositosis) (**Gambar 2.4**). Fase ini disebut juga fase

lamban karena reaksi pembentukan kolagen baru sedikit dan luka hanya dipertautkan oleh fibrin yang amat lemah (Gurtner, 2007).

2. Fase Proliferasi

Pada fase ini, fibroblas meletakkan substansi dasar dan serabut-serabut kolagen. Ketika kolagen diletakkan, maka terjadi peningkatan renggangan luka yang cepat. Terjadi proses angiogenesis dimana kapiler-kapiler dibentuk oleh tunas endothelial. Bekuan fibrin yang dihasilkan pada fase 1 ketika kapiler baru menyediakan enzim yang diperlukan. Pada fase ini tanda-tanda inflamasi mulai berkurang. Jaringan yang dibentuk dari kapiler baru disebut dengan jaringan granulasi yang berwarna merah terang (Morison, 2004).

3. Fase *Remodelling*

Fase ini dapat terjadi mulai hari ketujuh selama beberapa tahun. Hubungan dari pembuluh-pembuluh darah akan menurun seiring dengan menurunnya proses metabolisme penyembuhan luka dan fibroblas akan mulai menghilang. Matriks kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I yang dapat peningkatan *tensile strength* pada luka (Peterson, 2004).

2.3 Luka Infeksi Nosokomial

Infeksi nosokomial atau *hospital acquired infection* (HAI) merupakan infeksi yang didapatkan dan berkembang selama pasien dirawat dirumah sakit (WHO, 2002). Seseorang dapat dikatakan infeksi nosokomial apabila pasien telah memunculkan tanda-tanda klinis tersebut (Depkes, 2003). Pada saat pasien dirawat di rumah sakit tidak sedang dalam masa inkubasi penyakit, maka tanda tanda klinis ini baru muncul 3x24 jam sejak dimulainya perawatan (Atmadja, 2012). Infeksi dapat dikatakan

terjadi dirumah sakit apabila waktu mulai dirawat tidak didapatkan gejala klinis dan tidak sedang dalam masa inkubasi infeksi tersebut, infeksi sekurang-kurangnya 72 jam sejak dimulai dirawat, infeksi terjadi pada pasien dengan masa perawatan lebih lama dari waktu inkubasi infeksi tersebut, infeksi terjadi setelah pasien pulang dan dapat dibuktikan berasal dari rumah sakit, serta infeksi terjadi pada neonates yang didapat dari ibunya pada saat persalinan atau selama perawatan dirumah sakit.

Infeksi nosokomial dapat disebabkan oleh virus, bakteri, jamur, atau parasit. Mikroorganisme yang sering menimbulkan infeksi nosokomial pada luka yaitu dengan tingkat kejadian paling tinggi ialah *Staphylococcus aureus*. Namun sebagian kecil juga diinfeksi bakteri lain seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Coagulase-negative Staphylococci*, *Enterococci*, jamur, *Enterobacter*, dan *Escherichia coli*. Infeksi nosokomial dapat disebabkan sistem imun pasien yang rendah, pemberian obat immunosupresif, obat antimikroba, serta transfusi darah dalam keadaan tidak steril. Penularan infeksi nosokomial dapat terjadi karena kontak langsung terhadap pasien yang terinfeksi, udara, makanan, air, obat, alat yang terkontaminasi, serta melalui vektor biologis (Horran, *et al.*, 2008, Milton, *et al.*, 2015, Nasution, 2012).

2.4 Respon Imunologi pada Luka Infeksi Nosokomial

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan nama spesies dari genus *Staphylococcus*. *S. aureus* merupakan bakteri patogen gram positif yang bersifat invasif dan mampu menyebabkan berbagai penyakit pada hewan maupun manusia. Respon imun yang terjadi sebagai akibat adanya invasi dari bakteri *S. aureus* yaitu *S. aureus* sebagai antigen ketika masuk ke dalam tubuh dan dieliminasi oleh neutrofil dan makrofag sebagai perannya pada sistem imun *innate*. Selain itu makrofag juga

dapat berperan sebagai *antigen presenting cells* (APC). Bakteri akan difagositosis dan juga akan dikenali oleh MHC II di dalam makrofag, kemudian akan dipresentasikan dalam bentuk antigen peptida. Selanjutnya, MHC II akan berikatan dengan limfosit T *helper* (CD4) pada bagian T *Cell Receptor* (TCR) (Abbas, 2005). Sel T CD4+ yang teraktivasi akan kehilangan CD62L dan mengekspresikan berbagai molekul permukaan seperti CD25, CD44, CD69 yang bertujuan untuk melawan dan meregulasi aktivitas sel efektor yang teraktivasi akibat adanya paparan antigen bakteri (Rifa'I, 2011). Kemudian sel T CD4+ efektor akan mensekresikan IFN- γ yang berfungsi sebagai aktivasi makrofag, fagositosis, dan killing bakteri. Sel T CD4+ akan menghasilkan sitokin IL-2 yang mengakibatkan aktivasi sel T sitotoksik (CD8+) dan sel T reg (CD4+CD25+) (Abbas, 2005).

Selain itu, bakteri *S. aureus* dapat mengaktivasi respons imun adaptif melalui induksi superantigen (Fraser dan Proft, 2008). Interaksi antara superantigen dengan sel dapat menginduksi terbentuknya sitokin dan kemokin secara besar-besaran. Sitokin *tumor necrosis factor- α* (TNF α) dan IL-1 mempunyai aktivitas imunostimulan dan bekerja sinergis dengan IFN γ dalam meningkatkan reaksi imun dan inflamasi. Akan tetapi, sitokin-sitokin tersebut pada konsentrasi yang tinggi menjadi patogen dan dapat menginduksi *toxic shock* (Krakauer, 2011).

S. aureus penyebab infeksi nosokomial dapat masuk ke dalam luka dikenali oleh struktur *pathogen associated molecular patterns* (PAMP), seperti lipopeptida dan peptidoglikan bakteri. Reseptor untuk PAMP adalah *toll-like receptor* (TLR) yang diekspresikan pada neutrofil, makrofag, epidermis dan sel endotel. Ketika TLR sel mengikat produk asing, sel diaktifkan untuk menghasilkan mediator pro-

inflamasi, termasuk sitokin (TNF- α , IL-1), molekul adhesi (*integrin*, *selectins*) dan *growth factor*. Mediator pro-inflamasi akan memulai fase inflamasi pada proses penyembuhan luka. Fase inflamasi ditandai dengan migrasi leukosit ke dalam luka, yang terjadi dalam waktu 6 jam dari terbentuknya luka (Williams dan Moores, 2009).

Produk degradasi komplemen menarik neutrofil pada luka dan terjadi opsonisasi untuk fagositosis. Opsonin berfungsi sebagai molekul yang mengikat bakteri dan sel asing, serta meningkatkan fagositosis. Neutrofil akan mendominasi peradangan untuk 3 hari pertama dan memuncak pada 24-48 jam pasca terbentuknya luka. Fibrinopeptida, leukotrien, dan peptida bakteri berfungsi sebagai kemoatraktan untuk neutrofil. Aktivasi trombosit akan melepaskan zat kemoatraktan untuk makrofag dan fibroblas, seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor beta* (TGF- β). Neutrofil membunuh bakteri dan menghilangkan debris ekstraseluler melalui fagositosis, pelepasan *reactive oxygen species* (ROS), mediasi vasodilatasi, peningkatan permeabilitas vaskular, serta menghasilkan sitokin pro-inflamasi (Williams dan Moores, 2009)

Neutrofil mendominasi dalam awal inflamasi dan memiliki waktu hidup yang lebih pendek, sedangkan pada luka yang lebih lama akan digantikan oleh monosit. Konsentrasi monosit pada luka akan memuncak pada 48-72 jam dan bertahan selama berminggu-minggu pasca terbentuknya luka. Sitokin yang dilepaskan dari neutrofil teraktivasi, produk degradasi, dan protein inflamasi dalam matrik ekstraseluler akan menarik monosit ke dalam luka. *Growth factor* dan sitokin yang berperan sebagai kemoatraktan untuk monosit yaitu PDGF, TGF- α , TGF- β , VEGF, IGF-1, NGF, MCP-1 dan MIP-1a. Setelah peradangan akut mereda, permeabilitas

vaskuler lokal dipulihkan dan sel darah akan berhenti masuk ke dalam ruang ekstraseluler. Jika bahan asing atau bakteri tetap pada luka, monosit mengalami proliferasi dan inflamasi akut berlanjut menjadi inflamasi kronis (Werner dan Grose, 2003; Williams dan Moores, 2009).

Monosit bertransformasi menjadi makrofag dan berada dalam matriks ekstraseluler sementara. Makrofag meneruskan proses inflamasi melalui produksi dan pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 α , IL-1 β , IL-6 dan TNF- α . Makrofag juga merangsang dan memodulasi proses perbaikan (fibroplasia, angiogenesis dan epitelisasi) melalui pelepasan FGF-2, TGF- α , TGF- β , EGF, IGF, PDGF, VEGF, MMP dan TIMP. Makrofag berperan penting dalam *debridement* luka melalui aktivitas fagositosis dan modifikasi matriks ekstraseluler sementara menjadi jaringan granulasi (Williams dan Moores, 2009).

2.5 Interleukin-1 (IL 1)

Interleukin-1 (IL-1) merupakan salah satu jenis sitokin yang memiliki aktivitas luas pada berbagai jaringan dan merupakan mediator sel imun yang berfungsi sebagai pengatur reabsorpsi dan formasi tulang juga meningkatkan sintesis prostaglandin di dalam tulang. Interleukin-1 juga merupakan mediator dari respon tubuh terhadap adanya invasi mikroba, reaksi imunologis dan cedera jaringan (Kusumadewy, 2012). Efek biologis interleukin-1 dihasilkan dalam konsentrasi yang sangat kecil, bahkan dalam femtomolar (10^{-15}) serta terdiri dari 2 peptida yaitu α dan β dengan aktivitas yang identik. Interleukin-1 α terikat dimembran sedangkan interleukin-1 β disekresikan dan ditemukan di sirkulasi serta merupakan bentuk IL-1 terbanyak. Sebagian besar interleukin-1 β disekresikan oleh monosit dan sebagian

oleh makrofag, sel endotelial, fibroblas, dan sel epidermal yang diaktivasi oleh beberapa stimulus. IL-1 adalah sitokin proinflamasi yang mampu mengatur banyak aspek respon imun (Graves *et al.*, 2017).

IL-1 tidak hanya diproduksi dari monosit atau makrofak namun juga oleh *corneal epithelium*, sel mukosa mulut, sel Langerhans, neutrophil, fibroblas, sel endotelial, sel B, sel T, hepatosit (sel hepar) dan keratinosit (sel utama dalam kulit). *Mononuclear phagocytes* dapat distimulasi oleh berbagai stimulus untuk menghasilkan IL-1 dalam jumlah besar, antara lain yaitu mikroba, produk microbial, agen inflamasi dan antigen (Kusumadewy, 2012). Pada proses penembuhan luka, IL-1 diproduksi terutama oleh sel-sel epitel, dan IL-1 eksogen telah mampu mempercepat penyembuhan epidermal (Graves *et al.*, 2017).

Terdapat dua reseptor untuk interleukin-1, yaitu tipe I dan tipe II. Sebagian besar aktivitas IL-1 diperantarai melalui reseptor tipe (IL-1R1) yang terdapat dalam sebagian besar sel terutama didalam sel endotelial, hepatosit, keratinosit, T limfosit serta fibroblast. Reseptor tipe II memiliki aktivitas lebih sedikit dibandingkan tipe I. Reseptor tipe II bekerja dengan menghambat ikatan IL-1 dengan reseptor tipe I (*decoy receptor*) dan terutama terdapat di dalam limfosit B, monosit, dan netrofil. Inhibitor IL-1 alami yaitu IL-1 *receptor antagonist* (IL-1 ra) analog dengan IL-1 yang berikatan namun tidak mengaktifkan reseptor IL-1. IL-1 ra mampu menghambat IL-1 untuk menghasilkan reabsorpsi dan produksi PGE₂ (Kusumadewy, 2012).

Interleukin-1 berfungsi pada berbagai macam sel dan organ tubuh serta sebagai sitokin *pleiotropic*. Efek lokal yang dimediasi oleh IL-1 antara lain menstimulasi monosit dan makrofag untuk memproduksi IL-1 lebih banyak, sitokin

lainnya seperti *tumor necrotizing factor* (TNF), dan IL-6; menstimulasi proliferasi sel B, meningkatkan immunoglobulin, dan menstimulasi sel T untuk memproduksi sitokin (Kusumadewy, 2012).

Interleukin-1 mampu mengaktivasi *adenylate cyclase* yang dapat meningkatkan level Camp kemudian mengaktifkan protein kinase, memicu nuclear factor yang berfungsi sebagai activator transkrip gen serta mampu memicu sintesis enzim yang dapat mengaktivasi prostaglandin. IL-1 mampu menginduksi sintesis dan sekresi prostaglandin oleh sel endothelial dan sel otot halus sehingga mampu menyebabkan kontraksi otot polos dan kontriksi pembuluh darah serta mengatur adhesi sel molekul, menyebabkan produksi sitem pertahanan yang efektif terhadap bakteri, amur dan parasite (Kusumadewy, 2012). Menurut Pappa *et al.*, (2007), bahwa IL-1 diproduksi oleh makrofag yang berfungsi meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi limfosit. Interleukin 1 juga berperan merangsang secara non-spesifik ekspresi berbagai reseptor antigen pada permukaan sel, sehingga secara tidak langsung meningkatkan respon imun spesifik (Pappa *et al.*, 2007).

IL-1 diproduksi oleh makrofag yang berfungsi meningkatkan pertumbuhan dan diferensiasi limfosit. Interleukin 1 juga berperan merangsang secara non-spesifik ekspresi berbagai reseptor antigen pada permukaan sel, sehingga secara tidak langsung meningkatkan respon imun spesifik. Selain itu, IL-1 merangsang produksi limfokin, diantaranya IL-2 (**Tabel 2.1**), faktor pertumbuhan sel B, gamma interferon dan faktor kemotaktik (Nurrahman dan Nurhidajah, 2015).

Produksi IL-1 dalam jumlah yang banyak mampu menimbulkan efek terhadap endokrin dan terdapat dalam sirkulasi darah perifer, sebagai contoh dapat

menyebabkan demam dan menyebabkan pembentukan fase akut. *Inhibitor* alami IL-1 menghambat aktivitas IL-1, contohnya kortikosteroid dan prostaglandin yang dapat menekan sekresi IL-1 (Kusumadewy, 2012). Ekspresi IL-1 akan meningkat ketika jaringan kulit mengalami kerusakan akibat luka. IL-1 bersama mediator inflamasi lainnya serta meningkatkan ekspresi faktor adhesi pada sel endotel untuk mengaktifkan diapedesis sel radang ke lokasi luka untuk melawan agen infeksi yang mengontaminasi luka (Contassot *et al.*, 2012).

Tabel 2.1 Fungsi biologi IL-1 sesuai dengan sel target dan aktivitas biologisnya (Kusumadewy, 2012)

Sel target	Aktivitas biologi
<i>Tymocytes</i>	Proliferasi
Limfosit T	Memacu proliferasi dan produksi IL-2
Limfosit B	Memacu proliferasi dan produksi antibody
Hepatosit	Memacu sintesis fase akut
Sel hipotalamus	<i>Endogenous pyrogen</i> , memacu demam
Sel otot	Memacu proteolisis
Neutrofil	Memacu neutrofilia dan kemotaksis PMN leukosit
Fibroblas	Memacu produksi prostaglandin E2 dan kolagenase serta prostaglandin
Sel synovial	Memacu produksi prostaglandin E2 dan kolagenase
Kondrosit	Melepaskan kolagenase, prostaglandin E2
Tulang	Resorpsi

2.6 Fibroblas

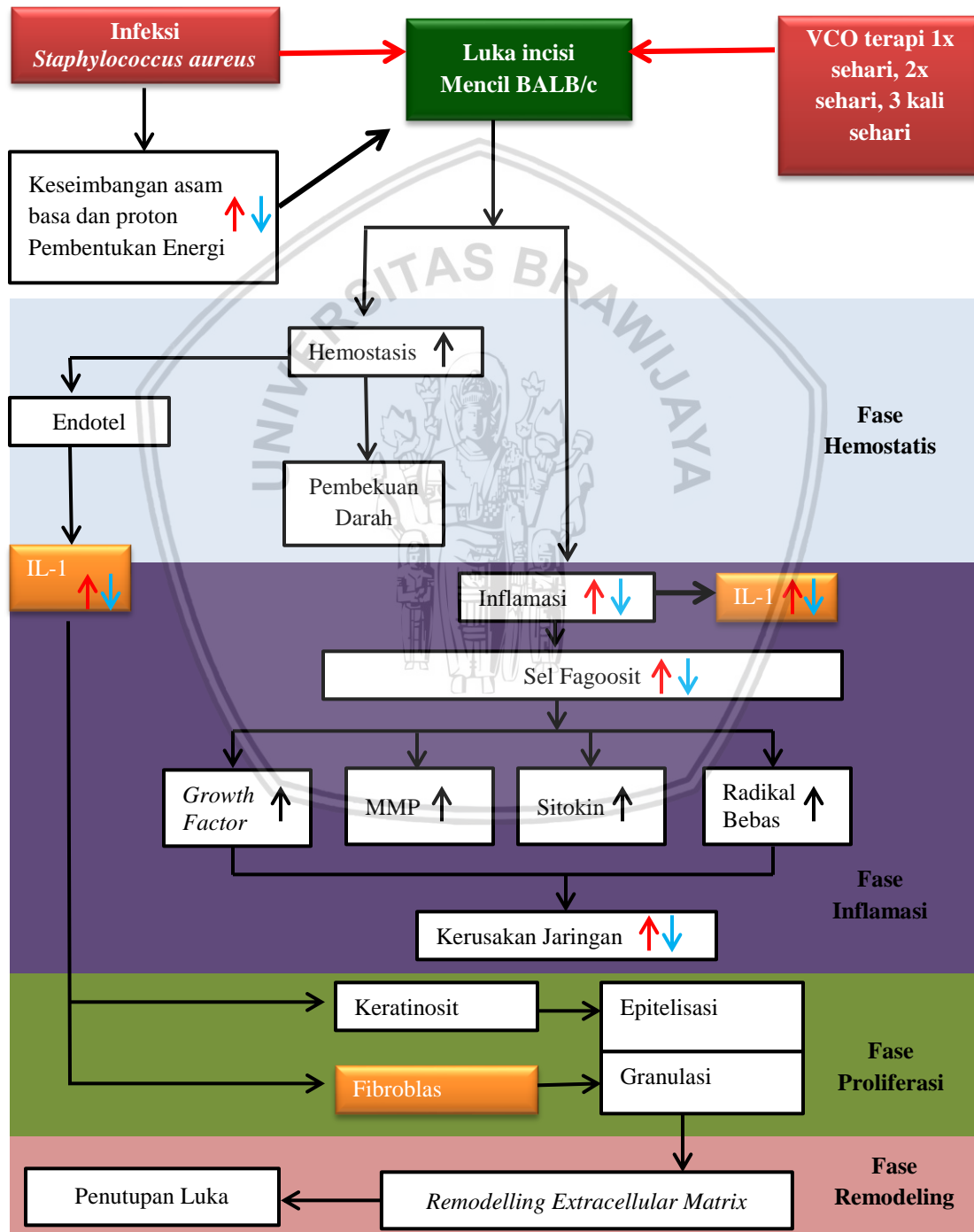
Fibroblas adalah sel yang mampu mensintesis matriks ekstraseluler dan kolagen yang berperan untuk penyembuhan luka. Fibroblas berasal dari derivat mesenkim primitif. Fibroblas memiliki berfungsi mempertahankan integritas struktur jaringan ikat dengan memproduksi matriks ekstraseluler. Fibroblas memiliki sitoplasma dengan inti sel yang berbentuk elips dengan satu sampai dua anak inti sel. Fibroblas juga mampu memproduksi kolagen, glikosaminoglikan, serat elastin dan glikoprotein yang membentuk matriks ekstraseluler. Fibrosit sebagai bentuk inaktif fibroblas diinduksi oleh makrofag menjadi fibroblas pada penyembuhan luka. Fibroblas kemudian terakumulasi di daerah luka melalui angiogenesis antara dua sampai lima hari pasca cedera. Jumlah fibroblas mencapai puncaknya sekitar 1 minggu pasca trauma dan merupakan sel dominan pada minggu pertama fase penyembuhan luka (Falanga, 2004, Tanggo, 2013). Pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin*, fibroblas umumnya berkelompok membentuk suatu garis sejajar dengan sitoplasma berwarna kemerahan dan kepadatannya diukur dengan mikrometer *graticule* pada pembesaran 400x (Kiernan, 2008).

Bentuk sel fibroblast ini tergantung pada sebagian besar substratnya (Fawcett, 2002). Fibroblas merupakan sel besar, gepeng, bercabang, dan terlihat berbentuk gelendong dari samping atau fusiform, Cabang-cabangnya berbentuk langsing. Fibroblas memiliki inti yang tampak pucat. Fibroblas terlihat mengerut dan berwarna gelap dengan pewarnaan basa. Pada pengamatan histologi, batas sel tidak nyata dan ciri inti merupakan pedoman untuk mengenalnya (**Gambar 2.5**). Fibroblas memiliki inti lonjong atau memanjang dan membran inti halus dengan

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan:



: Variabel bebas



: Variabel terikat



: Efek terapi VCO



: Stimulasi



: : Efek luka infeksi nosokomial

Luka nosokomial yang disebabkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* akan menyebabkan infeksi pada bagian jaringan kulit. Setelah terjadi infeksi bakteri *S. aureus* pada luka insisi maka akan terjadi respon untuk melakukan hemostatis yang dapat menghentikan pendarahan. Pada fase hemostatis, trombosit keluar dari pembuluh darah dan saling melekat. Selain itu terjadi pembentukan jala fibrin untuk pertautan luka dan pembekuan darah yang keluar dari pembuluh darah. Trombosit yang keluar dari pembuluh darah berfungsi untuk membentuk bekuan darah serta menghasilkan *growth factor* berupa PDGF, IGF-1, EGF, FGF, dan TGF- β yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi pada saat fase proliferasi. Pada fase inflamasi ini, endotel dan jaringan yang telah rusak akan menghasilkan mediator pro-inflamasi salah satunya ialah IL-1. Jaringan yang rusak akan disingkirkan dan terjadi proses perlawanan infeksi dari bakteri pathogen. Sel yang rusak akan mengeluarkan sitokin yang menyebabkan sel radang seperti leukosit, makrofag dan limfosit bergerak menuju luka. Sel radang tersebut akan menghasilkan *growth factor*, MMP, dan ROS. Fase inflamasi terjadi kurang lebih satu hingga lima hari.

Setelah fase inflamasi selesai maka sel radang dan IL-1 akan menurun. Fibroblas meletakkan substansi dasar dan serabut kolagen untuk peningkatan renggangan luka. Pada fase proliferasi, terjadi proses angiogenesis dan pembuluh

kapiler dibentuk oleh tunas endothelial. Jaringan yang telah dibentuk dari kapiler menghasilkan jaringan granulasi yang berwarna merah terang. Tahap akhir fase pembentukan luka ialah remodeling dimana fibroblas akan membentuk matriks ekstraseluler. Selain itu matriks kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I yang dapat peningkatan *tensile strength* (tegangan maksimum yang bisa ditahan oleh sebuah bahan ketika diregangkan atau ditarik) pada luka.

Virgin Coconut Oil (VCO) mampu memperbaiki luka karena memiliki beberapa komponen biologi yang aktif dan bersifat antimikroba seperti asam lemak trigliserida yang berubah menjadi monogliserida dan asam lemak bebas pada saat berada dalam tubuh. Asam lemak utama dalam VCO yang paling aktif sebagai antibakteri adalah asam laurat dan asam kaprat beserta monogliseridanya yakni monolaurin dan monokaprin. VCO mampu mengeliminasi infeksi bakteri dengan cara mengganggu keseimbangan asam-basa, proton dan produksi energi di dalam sel bakteri sehingga bakteri menjadi mati serta mampu menstimulasi respon imun dengan meningkatkan sel T khususnya sel Th-CD4 sehingga mempercepat produksi antibodi oleh sel B dan juga menghasilkan zat-zat yang mengaktifkan sel T sitotoksik.

VCO ini mampu mempersingkat fase inflamasi sehingga kadar relatif IL-1 akan menurun. Mekanisme VCO dalam mempersingkat inflamasi yaitu dengan cara menghambat sintesis mediator inflamasi seperti *histamine*, 5-HT, kinin dan prostaglandin. Terhambatnya *histamine* mampu menurunkan peningkatan permeabilitas vaskuler. Terhambatnya kinin juga memberikan pengaruh dalam menurunkan permeabilitas vaskuler, vasokonstriksi, dan penurunan rasa nyeri. Terhambatnya prostaglandin menyebabkan vasokonstriksi vaskuler sehingga akan

sulit dilalui oleh larutan protein yang berupa koloid. Penurunan permeabilitas tersebut menyebabkan penurunan jumlah cairan yang keluar dari pembuluh darah kapiler sehingga tidak terbentuk edema.

Asam lemak VCO adalah bioaktif molekul yang mampu memodulasi proliferasi sel, *cell signaling*, dan aktivitas *growth factor*. *Growth factor* tersebut berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi dari sel luka seperti keratinosit dan fibroblas untuk bermigrasi kedalam bagian ruang luka. Selanjutnya luka akan mengalami proses proliferasi. Pada fase ini, VCO juga mampu mempercepat proliferasi dan jumlah fibroblas yang terbentuk juga akan meningkat. Fase terakhir ialah fase penyembuhan luka atau fase *remodelling*. Pada fase tersebut, fibroblas membentuk matriks ekstraseluler yang mengandung myofilamen yang disebut myofibroblas. Myofibroblas mampu bermigrasi kearah luka dan berkontraksi hingga luka akan menjadi tertutup. Pada fase remodeling ini terjadi proses apoptosis dan maturasi jaringan ikat fibrosa (*fibrous*) yang menggantikan sel-sel kulit yang normal setelah terjadi perlukaan pada kulit.

3.2 Hipotesis Penelitian

1. *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat digunakan sebagai terapi luka insisi hewan model nosokomial dengan menurunkan kadar relatif IL-1.
2. *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat digunakan sebagai terapi luka insisi hewan model nosokomial dengan meningkatkan jumlah pembentukan fibroblas.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Februari 2018 dan dilakukan di beberapa laboratorium yaitu :

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan hewan coba di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml dan pembacaan hasil histopatologi kulit di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
3. Pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan pengasaman perasan jeruk nipis di Laboratorium Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Uji *flowcytometry* untuk pengamatan ekspresi IL-1 yang dilakukan di Laboratorium Biomolekuler FMIPA Universitas Brawijaya, Malang.
5. Pembuatan preparat histopatologi kulit dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu kandang mencit, *dissecting set*, *beaker glass*, kertas saring, wadah plastik, desikator, mikroskop, glove, masker, bunsen, autoklaf, spektroskopi FTIR, serta alat untuk uji *flowcytometry* seperti *yellow*

tip, blue tip, mortir, sentrifuge tube, flowcytometer dan software BD Cell Quest ProTM.

Bahan yang dipersiapkan dalam penelitian ini antara lain mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dengan berat $24,2 \pm 3,0$ g berumur 8 minggu, benang silk 4/0, jarum tapper ½ GT 35 mm, kelapa, jeruk nipis, alkohol 70 %, *ketamine HCl*, *xylazine*, media MSA, media NA slant, media NB, media MHA, *Ketamine HCL-Xylazine*, *aquades pro inj.*, formalin 10%, antibodi anti IL-1, *cytofix*, *cytoform*, pewarnaan *Hematoksilen-Eosin* (HE), NaCl fisiologis 0,9%, dan xylol

4.3 Tahapan Penelitian

Adapun tahapan penelitian sabagai berikut :

1. Rancangan penelitian dan persiapan hewan coba.
2. Pembuatan *Virgin Coconut Oil* (VCO) menggunakan pengasaman perasan jeruk nipis.
3. Perlakuan insisi dan penjahitan pada hewan coba dengan menggunakan benang yang telah terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus*.
4. Terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO).
5. Pengambilan dan pembuatan preparat histopatologi kulit.
6. Pengamatan kadar relatif IL-1 dengan metode *flowcytometry*.
7. Tahap perhitungan ketebalan jaringan ikat dengan metode pewarnaan *Hematoksilen-Eosin* (HE).
8. Analisis data.

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan *post control only*. Penelitian ini terdiri dari lima kelompok dengan beberapa perlakuan kelompok yang berbeda. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini antara lain adalah:

1. K1 (Kelompok 1) adalah mencit yang telah dilakukan insisi dan dijahit dengan benang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml tanpa pemberian terapi VCO (kontrol positif).
2. K2 (Kelompok 2) adalah mencit yang diinsisi dan dijahit dengan benang silk secara aseptis (kontrol negatif).
3. K3 (Kelompok 3) adalah mencit yang telah dilakukan insisi dan dijahit dengan benang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml serta dilakukan terapi VCO dengan frekuensi 1 kali dalam sehari
4. K4 (Kelompok 4) adalah mencit yang telah dilakukan insisi dan dijahit dengan benang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml serta dilakukan terapi VCO dengan frekuensi 2 kali dalam sehari
5. K5 (Kelompok 5) adalah mencit yang telah dilakukan insisi dan dijahit dengan benang terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml serta dilakukan terapi VCO dengan frekuensi 3 kali dalam sehari

4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian

Kriteria hewan model yang digunakan pada penelitian ini ialah mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan dengan berat $24,2 \pm 3,0$ g berumur 8 minggu. Penelitian ini

menggunakan 5 perlakuan, sehingga banyaknya perlakuan dihitung dengan menggunakan rumus $t(n-1) \geq 15$ (Montgomery and Kowalsky, 2011) :

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas didapatkan bahwa untuk 5 macam kelompok perlakuan akan diperlukan jumlah ulangan minimal 4 kali dalam setiap kelompok perlakuan sehingga dibutuhkan 20 ekor mencit.

4.3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- Variabel bebas : Dosis terapi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan bakteri *Staphylococcus aureus* 10^5 CFU/ml.
- Variabel terikat : Jumlah fibroblas dan kadar relatif IL-1
- Variabel Kontrol: Homogenitas mencit meliputi jenis kelamin, berat badan, umur, pakan, dan kandang serta perlakuan luka model nosokomial

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Sampel penelitian menggunakan mencit sebagai hewan percobaan. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Mus musculus* galur BALB/c jantan dengan berat $24,2 \pm 3,0$ g yang berumur 8 minggu. Mencit diadaptasi selama tujuh hari sebelum digunakan untuk penelitian. Hewan coba diberi minum secara *ad libitum* dan pakan berbentuk pelet sebanyak 10% berat badan setiap pagi dan sore. Pakan diberikan sebanyak 3 g per hari. Mencit terdiri dari lima kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri dari empat ekor mencit dalam satu kandang. Hewan coba mencit dipelihara di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang

4.4.2 Pembuatan VCO Menggunakan Pengasaman Perasan Jeruk Nipis

Proses pembuatan VCO dapat dijelaskan sebagai berikut (Setiaji dan Surip, 2006):

- a. Kelapa tua dikupas dengan cara memisahkan antara daging buah dengan kulit sabut dan tempurungnya, lalu airnya dibuang. Kelapa yang sudah dikupas ditempatkan di dalam satu wadah dan siap untuk diparut.
- b. Kelapa diparut dan dikumpulkan dalam wadah yang cukup besar, supaya hasil parutan tidak berhamburan.
- c. Parutan kelapa dicampur dengan air bersih kemudian diperas. Hasil perasan kelapa ditampung di dalam toples plastik. Proses pemerasan kelapa ini dilakukan dua kali. Jadi, ampas hasil perasan pertama dicampur lagi dengan air bersih, lalu

diperas dan hasil perasan disaring dan ditampung di dalam toples plastik. Proses pemerasan ini sangat penting dan harus segera dilakukan, karena jika hasil parutan kelapa terlalu lama didiamkan rasanya akan asam dan tidak bisa menghasilkan VCO.

- d. Air hasil perasan yang ada di toples plastik didiamkan sekitar 2 jam, sehingga terdapat 2 lapisan lapisan atas adalah kanil (krim) dan bagian bawah adalah air (skim). Setelah air terbuang, proses selanjutnya kanil (krim) dapat diolah dengan metode pengasaman dengan menambahkan perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 1% (Qosimah, 2017). Proses pendiaman dilakukan selama 10 jam . Selanjutnya akan terbentuk tiga lapisan yaitu lapisan pertama berada paling bawah adalah air, lapisan kedua berada ditengah adalah blondo dan lapisan ketiga yang paling atas minyak.
- e. Minyak yang berada di lapisan atas adalah minyak VCO, karena itu harus ditampung di tempat bersih dan higienis (toples plastik atau lainnya). Cara mengambil minyak dengan memasukkan selang kecil, lalu disedot dan ditampung dalam wadah yang telah disiapkan.
- f. Selanjutnya untuk menghindari masuknya bakteri dan membuang kadar air, maka dilakukan penyaringan. Penyaringan ini sangat penting agar selain kadar air bisa mencapai 0,015%, juga supaya minyak tidak berbau tengik.

4.4.3 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji *S. aureus* diremajakan pada medium *Nutrient Agar* (NA) miring steril. Mikroba uji diinokulasi sebanyak satu ose ke dalam 2 ml medium NA dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Peremajaan dilakukan dalam

kondisi steril (Nuraina, 2015). Kultur cair *S. aureus* dalam NB steril disetarakan dengan larutan standar 1 Mc. Farland I (populasi $\pm 3 \times 10^8$ CFU/ml). Selanjutnya, biakan bakteri diencerkan dengan NB steril hingga konsentrasinya menjadi 10^5 CFU/ml (Sujono, 2010). Bakteri *S. aureus* dalam penelitian ini diuji sensitivitas terhadap antibiotik dengan metode difusi cakram kertas dengan cara diletakkan di permukaan medium *Mueller-Hinton* agar yang telah diinokulasikan *S. aureus*. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam dan diamati zona hambatnya pada beberapa antibiotik (Sari, 2015).

4.4.4 Pembuatan Benang Terkontaminasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pembuatan benang yang terkontaminasi *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan benang *silk* steril yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml dalam pengenceran suspensi *S. aureus*, kemudian dilakukan pencampuran menggunakan *mixer vortex* selama 10 detik, dan direndam dalam suspensi selama 30 menit. Tahap selanjutnya segmen dikeluarkan dari tabung dan dikeringkan dalam cawan petri lain yang steril sehingga benang tidak terkontaminasi oleh bakteri lainnya (Dai, 2011).

4.4.5 Pembuatan Infeksi Nosokomial pada Benang

Hewan coba dilakukan beberapa perlakuan dan akan diajukan persetujuan layak etik dari Komisi Layak Etik Penelitian UB No. 846-KEP-UB. Mencit diberikan label menggunakan spidol pada bagian ekor sesuai dengan kelompok perlakuan. Setelah diberikan label, mencit dilakukan anestesi menggunakan anestesi umum berupa kombinasi *ketamine* HCl (dosis 100 mg/kgBB) dan *Xylazine* (dosis 5 mg/kgBB) (Plumb, 2008).

Xylazine 20 mg/ml sebanyak 0,5 ml diencerkan dengan cara dicampur dengan 19,5 ml aqua pro injeksi di dalam vial steril. Hal ini bertujuan supaya mudah untuk lakukan injeksi pada mencit. Selanjutnya, *Ketamine* HCl 100 mg/ml sebanyak 2 ml dicampur dengan 18 ml aqua pro injeksi. Pemberian campuran *Ketamine* HCl – *Xylazine* disuntikkan dengan dosis 0.1 ml/10 gBB melalui rute intramuskular (Plumb, 2008). Tahap selanjutnya dilakukan pencukuran pada daerah punggung dan dibersihkan dengan alkohol 70 %. Setelah itu dilakukan insisi *longitudinal midline* sepanjang 2.3 ± 0.2 cm sampai panniculus carnosus. Luka dijahit dengan benang silk 4/0 yang telah terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* (10^5 CFU/ml). Penjahitan dilakukan dengan jarum *tapper* 1/2 GT 35 mm pola *simple continuous suture* dengan panjang benang 5 cm secara diagonal pada panniculus carnosus.

4.4.6 Terapi VCO

Terapi dilakukan dengan memberikan *Virgin Coconut Oil* (VCO) sebanyak dua kali sehari dengan cara mengoleskan pada bagian luka yang telah dijahit menggunakan benang silk. Pengamatan dilakukan secara makroskopis setiap hari dengan pengamati penyembuhan luka. Pemberian terapi dilakukan selama tujuh hari.

4.4.7 Pengambilan Jaringan Kulit

Pengambilan jaringan kulit hewan coba dilakukan pada hari ke-15 dengan cara dilakukan eutanasi terlebih dahulu menggunakan teknik dislokasi leher. Bagian kulit punggung yang akan diambil jaringan kulitnya dibersihkan dari bulu dengan cara dilakukan pencukuran. Kulit diambil pada ketebalan ± 3 mm sampai dengan subkutan dan luas 2×2 cm². Menurut Febran dkk. (2010), menjelaskan bahwa kulit

yang diperoleh difiksasi menggunakan larutan *Buffer Neutral Formalin* atau BNF 10%.

4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Jaringan kulit yang sudah dieksisi dimasukkan ke dalam larutan formalin 10% dengan waktu fiksasi jaringan 18-24 jam. Selanjutnya jaringan didehidrasi dalam larutan aseton 2x masing-masing selama 1 jam dan dilanjutkan clearing dalam larutan kloroform 2x masing-masing selama 1 jam. Kemudian jaringan diinfiltrasi dalam larutan kloroform parafin selama 1,5 jam dan parafin infiltrasi selama 1,5 jam. Jaringan ditanam dalam *parafin block* (**Lampiran 2**). Jaringan yang sudah padat dipotong setebal 5 mikron dengan mikrotom. Potongan jaringan ditempelkan pada kaca objek yang sebelumnya telah diolesi albumin-gliserin sebagai perekat. Jaringan pada kaca obyek diletakkan di atas *hot plate* hingga mengering (Balqis dkk., 2014). Gambaran histopatologi jumlah fibroblas kulit diamati menggunakan pewarnaan *Hematoxilen-Eosin* (HE) (**Lampiran 3**).

4.4.9 Pengukuran Kadar Relatif IL-1 menggunakan *Flowcytometry*

Sampel kulit diambil dengan margin 1 cm dari tepi atas, bawah, kiri, dan kanan dari garis insisi. Sampel yang telah diambil dibilas dengan PBS sebanyak dua kali, diletakan dalam cawan petri yang berisi 5 ml PBS, digerus menggunakan pangkal spuit dan dihomogenisasi serta disuspensi menggunakan PBS. Sel-sel yang diperoleh dari hasil isolasi difilter dengan menggunakan *wire* (**Lampiran 2**). Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm, pada suhu 20°C selama 5 menit (Hefni, dkk., 2013). Hasil supernatan dibuang dan pelletnya di fiksasi dengan 100 µL *cytofix/cytoferm* 10x dan diinkubasi kembali selama 20 menit. *Cytofix/cytoferm*

berfungsi untuk fiksasi dan permeabilitas sel yang diperlukan untuk pewarnaan sitokin intraselular dengan antibodi anti-sitokin yang telah terkonjugasi. Setelah itu dicuci dengan 1 ml *wash buffer* 10x. supernatan dibuang dan ditambahkan 50- 100 μ L kemudian ditambahkan antibodi intracellular staining (anti IL-1) yang belum diencerkan sebanyak 1 μ l yang dikonjugasi dengan label PE dan dinkubasi 15 menit sebelum di baca di *flowcytometry*. Program diatur sesuai dengan pewarnaan dan jenis sel yang diidentifikasi. Gated dilakukan berdasarkan pola ekspresi sel yang terlihat dalam layar komputer

4.5 Analisis Data

Pengamatan parameter kepadatan fibroblas dilakukan dengan mengamati lima lapang pandang tiap sampel. Perhitungan kepadatan fibroblas dilakukan secara kuantitatif melalui pewarnaan *Hematoksilen-Eosin* dan dihitung pada lima lapang pandang yang telah di rata-rata serta menggunakan *software Image Raster®*. Kadar relatif IL-1 diamati secara kuantitatif menggunakan *flowcytometer* yang dianalisis dengan software BD *cellquest Pro™*.

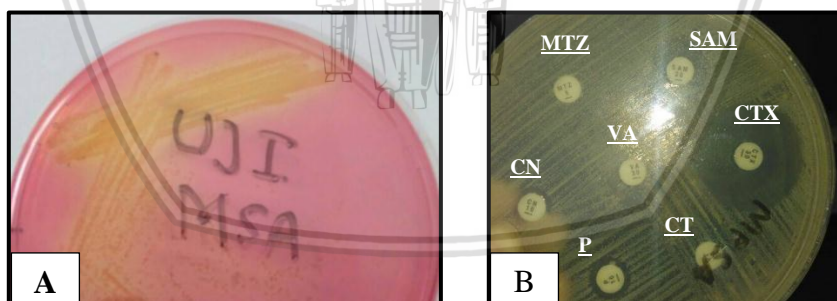
Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan *software IBM SPSS Statistics 19®*. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini berupa hasil ekspresi IL-1 dan pembentukan fibroblas dengan uji *one way ANOVA* dan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). ANOVA digunakan untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok, dan dilanjutkan dengan BNJ untuk mengetahui hasil yang paling berbeda nyata.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil pengujian Bakteri *S. aureus*

Bakteri *S. aureus* yang digunakan merupakan jenis bakteri *S. aureus* patogen. Hal ini dibuktikan dengan hasil uji MSA yang menunjukkan bahwa bakteri *S. aureus* mampu tumbuh pada media dengan membentuk warna kuning. Menurut Toelle dan Viktor (2014), Uji mannitol salt agar (MSA), merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan *Staphylococcus sp.* dalam memfermentasi mannitol. Hasil positif ditunjukkan perubahan warna pada medium dari warna merah menjadi kuning karena adanya *fenol acid* dan hasil negatif tidak terjadi perubahan warna (Toelle dan Viktor, 2014). Sedangkan pada uji sensitivitas bakteri, menunjukkan hasil bahwa bakteri ini telah resisten terhadap antibiotik gentamicin, metronidazole, vancomycin, ampicillin dan colistin (**Gambar 5.1**).

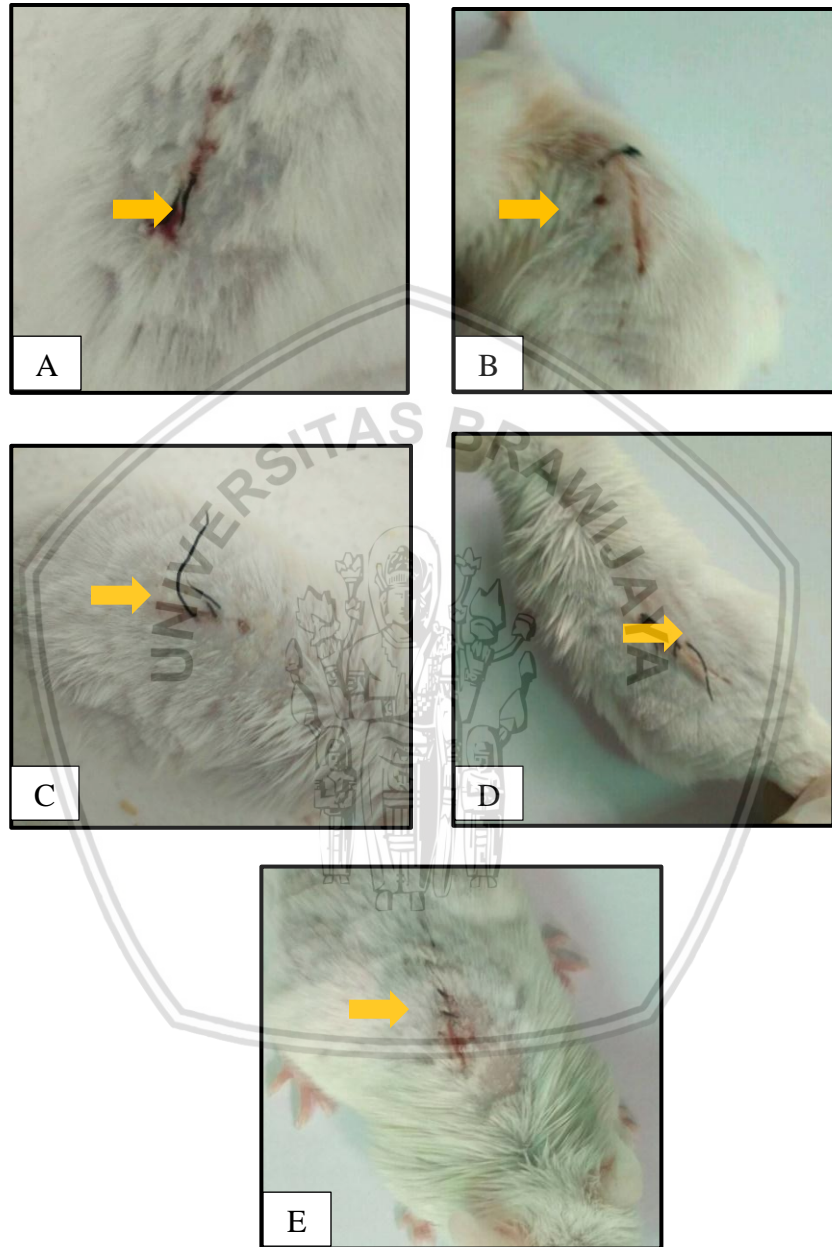


Gambar 5.1 Hasil pengujian bakteri *S. aureus*, A. Uji MSA positif yang ditunjukkan dengan adanya koloni warna kuning B. Hasil pengujian sensitivitas *S. aureus* terhadap antibiotik, MTZ: Metronidazole, SAM: Ampicillin, CTX: Cefotaxime, CT: Colistin, P: Penisilin, CN: Gentamicin, VA: Vancomycin

5.2 Pengaruh *Virgin Coconut Oil* (VCO) Terhadap Jumlah Fibroblas

Gambaran kesembuhan luka terapi VCO terhadap luka insisi mencit (*Mus musculus*) model nosokomial dapat dilihat pada **Gambar 5.2**. Luka kelompok kontrol negatif menunjukkan luka hasil insisi yang menyatu namun dan tidak terdapat inflamasi di hari kedelapan pasca operasi. Kondisi ini menunjukkan bahwa pada kelompok negatif tergolong dalam *clean wound* atau luka bersih tidak terdapat kontaminasi. Luka insisi pada kontrol positif belum menutup secara sempurna dan terdapat inflamasi. Kondisi ini menunjukkan bahwa luka insisi pada kelompok positif tergolong dalam *infected wound* atau luka terinfeksi. Luka kontrol positif mengalami fase inflamasi lebih panjang melebihi masa inflamasi normal pada luka. K3, K4 dan K5 termasuk dalam *contaminated wound* karena terkontaminasi *S. aureus* pada hari pertama pasca operasi (Chard, 2008). K3, K4 dan K5 menunjukkan kesembuhan luka pada hari kedelapan pasca operasi ditandai dengan menutupnya luka dan tidak adanya inflamasi. Pada K3 luka mulai menutup, tidak ada inflamasi dan rambut disekitar luka sudah mulai tumbuh. Berdasarkan proses menutup luka, kondisi luka K3 sudah memasuki fase proliferasi yang ditandai dengan berakhirnya fase inflamasi. Pertumbuhan bulu pada K3 juga di dukung karena secara fisiologis pada fase proliferasi terjadi proses angiogenesis, peningkatan fibroblas dan serabut kolagen. Sedangkan pada kelompok K4 dan K5 luka sudah mulai menutup, tidak ada inflamasi namun rambut disekitar luka belum menunjukkan pertumbuhan. K4 dan K5 juga menunjukkan berakhirnya fase inflamasi namun belum menunjukkan pertumbuhan bulu yang dapat disebabkan kondisi luka berada di awal fase

proliferasi dimana proses angiogenesis dan pembentukan fibroblas dan serabut kolagen baru dibentuk di awal fase ini.



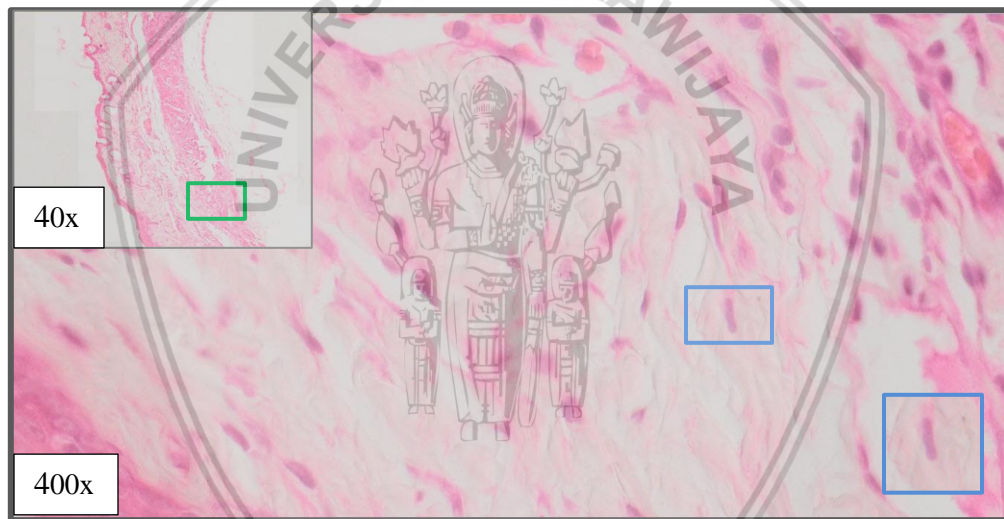
Gambar 5.2 Gambar mikroskopis kesembuhan luka pada hari kedelapan pasca operasi.
Garis insisi ditunjukkan oleh pada kuning (➡)

Keterangan:

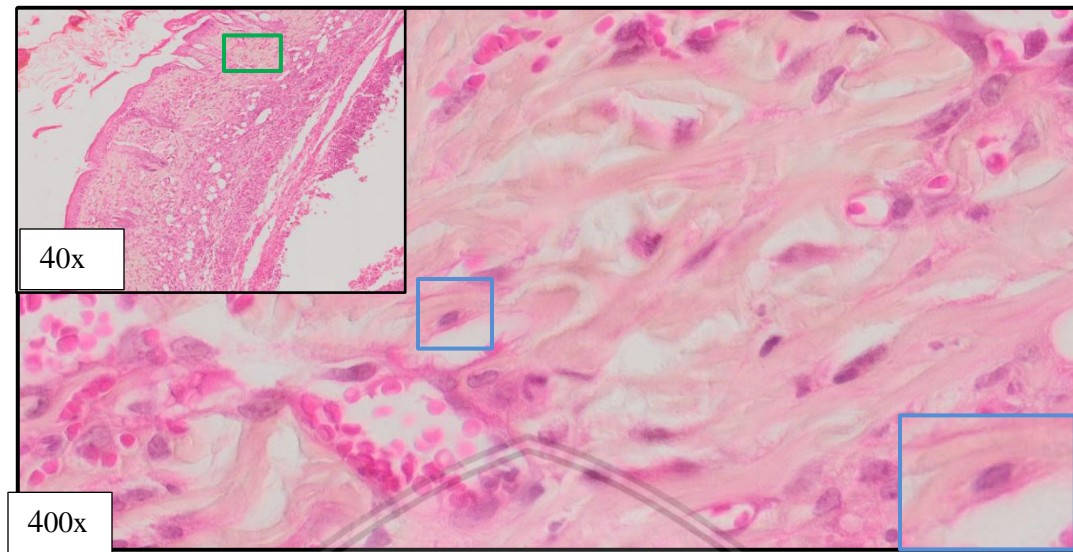
- (A) K1 (kontrol positif) : luka belum menutup dan terdapat inflamasi
- (B) K2 (kontrol negatif): luka menutup dan tidak terdapat inflamasi
- (C) K3: luka menutup dan tidak terdapat inflamasi, terdapat pertumbuhan bulu

- (D) K4: luka menutup dan tidak terdapat inflamasi, belum terdapat pertumbuhan bulu
(E) K5: luka menutup dan tidak terdapat inflamasi, belum terdapat pertumbuhan bulu

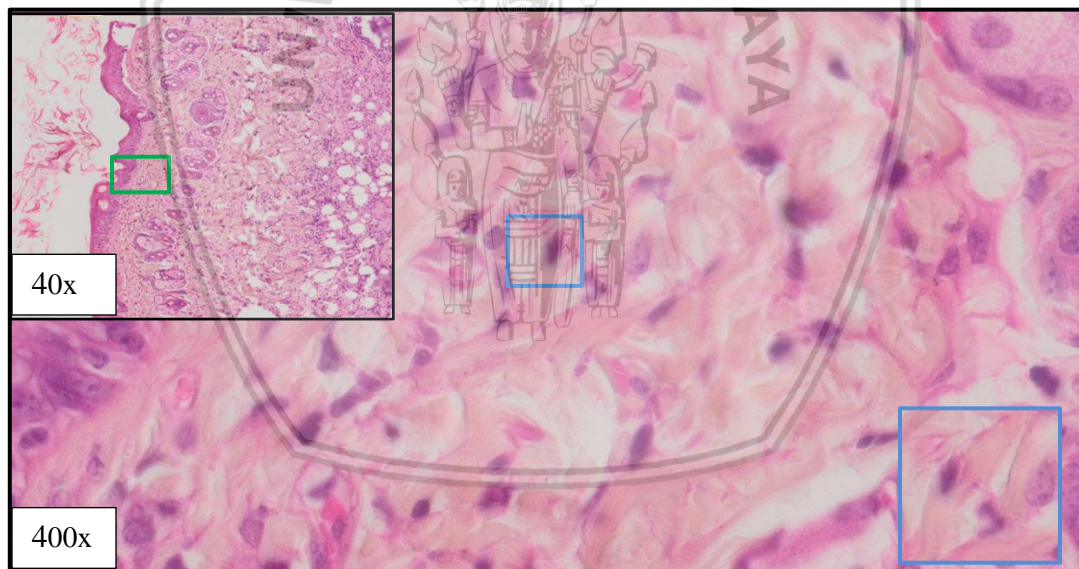
Pengamatan jumlah sel fibroblas dilakukan untuk mengamati kesembuhan luka berdasarkan histopatologi. Perhitungan jumlah fibroblas pada masing-masing sampel dihitung menggunakan mikroskop perbesaran 400x pada lima lapang pandang yang ditunjukkan pada **Gambar 5.2** sampai dengan **Gambar 5.6** berikut ini. Pengamatan parameter jumlah sel fibroblas dilakukan dengan menghitung rata-rata jumlah sel fibroblas dari lima lapang pandang tiap sampel.



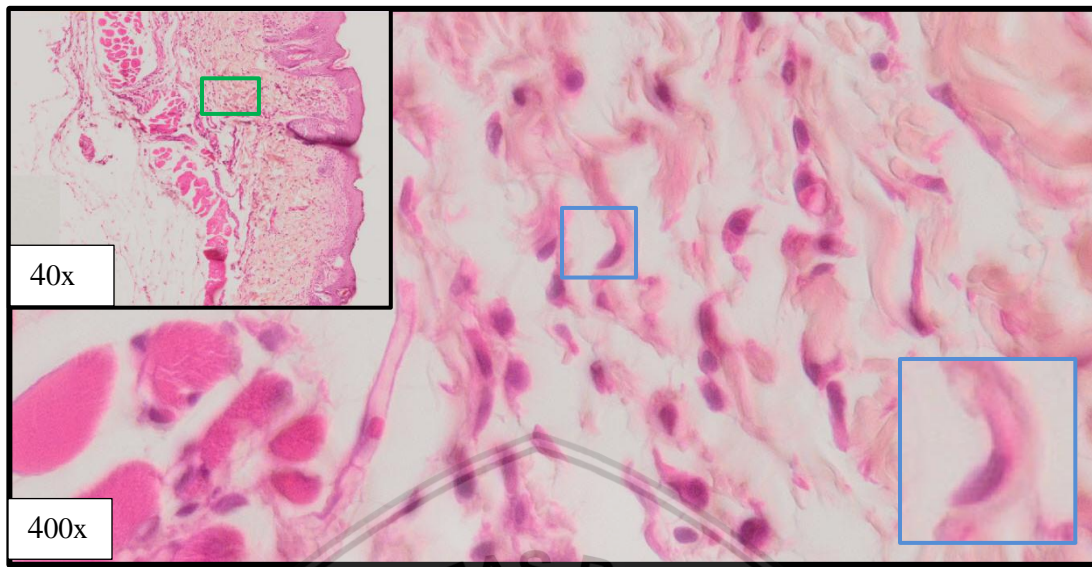
Gambar 5.3 Gambaran histopatologi luka insisi kontrol positif dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis tampak belum menyatu dan sedikit terdapat fibroblas.



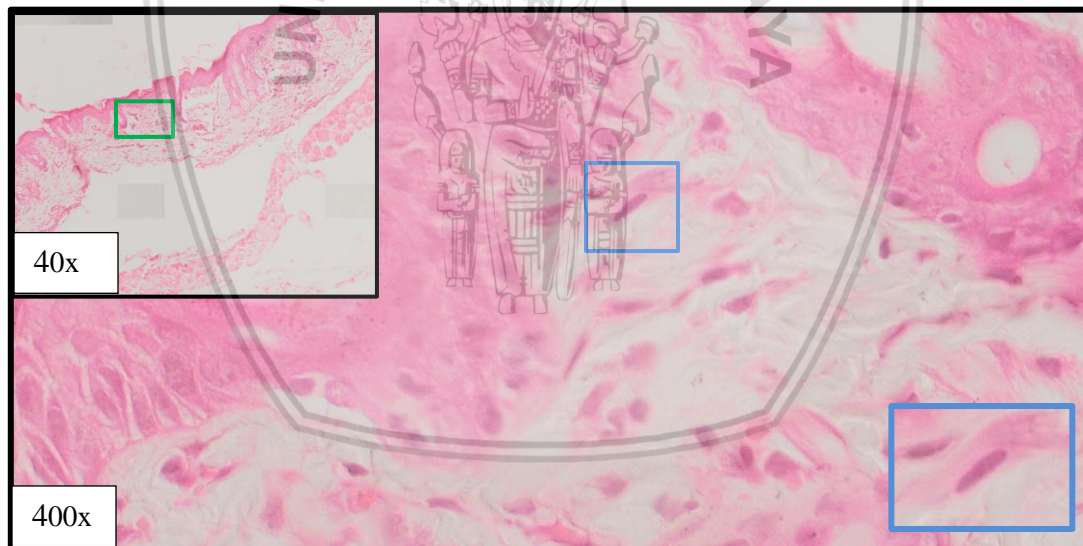
Gambar 5.4 Gambaran histopatologi kontrol negatif dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis menyatu dan terisi oleh sel fibroblas.



Gambar 5.5 Gambaran histopatologi luka terapi VCO 1x pemberian dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis tampak menyatu dan sel fibroblas memenuhi bagian dermis.

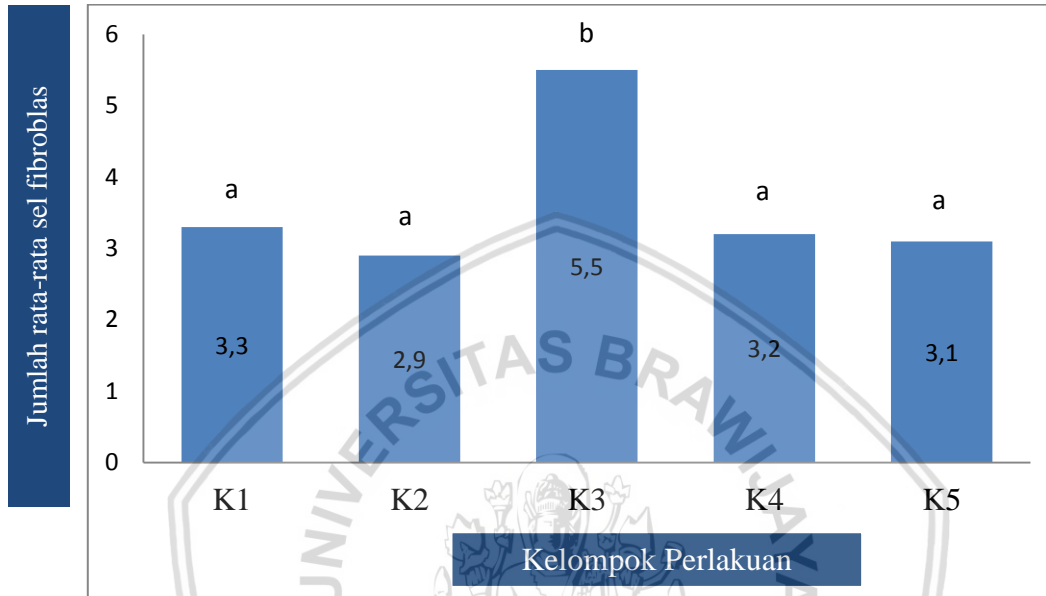


Gambar 5.6 Gambaran histopatologi luka terapi VCO 2x pemberian dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis tampak menyatu dan sel fibroblas memenuhi bagian dermis.



Gambar 5.7 Gambaran histopatologi luka terapi VCO 3x pemberian sehari dengan pembesaran 40x dan 400x menggunakan pewarnaan HE. Lapisan dermis tampak menyatu dan sel fibroblas memenuhi bagian dermis.

Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistic menggunakan software IBM SPSS Statistics 19®. Histogram hasil perhitungan jumlah fibroblas ditunjukkan pada **Gambar 5.7**.



Gambar 5.8 Histogram jumlah rata-rata sel fibroblast. K1: Kontrol negatif, K2: Kontrol positif, K3: Terapi VCO 1x sehari, K2: Terapi VCO 2x sehari, K3: Terapi VCO 3x sehari.

Berdasarkan statistik deskriptif, semua kelompok perlakuan menunjukkan nilai standar deviasi yang lebih kecil dari *mean*. Uji yang dilakukan selanjutnya ialah uji homogenitas dan uji normalitas untuk mengetahui apakah data tersebut tergolong homogen dan normal. Berdasarkan uji tersebut, data termasuk homogen dan normal sehingga dapat dilanjutkan pada uji *one way* ANOVA.

Pada uji *one way* ANOVA diperoleh hasil nilai Sig.<0,05 dan menunjukkan H0 ditolak ehingga terdapat minimal satu kelompok yang memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan. Uji lanjutan berupa uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dilakukan untuk

mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan. Hasil dari Uji BNJ tersebut ditunjukkan pada **Lampiran 7.5** dan pemberian notasi ditunjukkan pada **Tabel 5.1** berikut ini.

Tabel 5.1 Pemberian notasi pada rata-rata jumlah sel fibroblas

Kelompok	Jumlah Sel Fibroblas (Mean \pm SD)
K1 (Kontrol Positif)	$3,3 \pm 0,2^a$
K2 (Kontrol Negatif)	$2,9 \pm 0,6^a$
K3 (Terapi VCO 1x Pemberian)	$5,5 \pm 0,5^b$
K4 (Terapi VCO 2x Pemberian)	$3,2 \pm 0,4^a$
K5 (Terapi VCO 3x pemberian)	$3,1 \pm 0,5^a$

Kelompok K2, K3, K4 dan K5 memiliki jumlah fibroblas lebih tinggi dibandingkan dengan K1. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok terapi VCO mampu menyembuhkan luka pada jenis luka yang telah terinfeksi bakteri khususnya infeksi *S. aureus*. Sesuai dengan hasil positif uji MSA, bakteri pada infeksi luka ini termasuk dalam bakteri *S. aureus* patogen. Bakteri *S. aureus* telah resisten pada antibiotik pada uji sensitivitas antibiotik. Luka infeksi bakteri ini pada umumnya menyebabkan proses penyembuhan luka yang relatif lama dibandingkan dengan jenis luka *clean wound* atau kontrol negatif. Hal ini dibuktikan dengan rata-rata sel fibroblas K1 yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol negatif.

Berdasarkan hasil uji BNJ dan pemberian notasi didapatkan bahwa K3 memiliki notasi yang berbeda signifikan, sehingga pada pengujian ini dapat

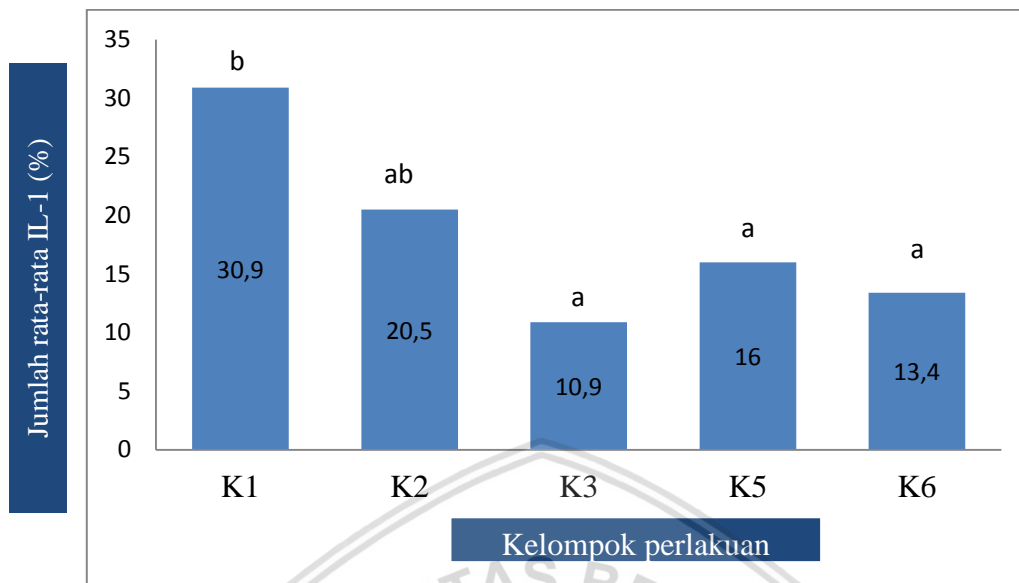
disimpulkan bahwa terdapat satu kelompok yang berbeda. Satu kelompok yang berbeda tersebut yaitu K3 yang merupakan perlakuan terbaik karena memiliki rata-rata terbesar. Sedangkan kelompok yang memiliki jumlah rata-rata terkecil yaitu kelompok K1 (Kontrol positif). Jumlah rata-rata fibroblas antara kelompok kontrol positif dan negatif tidak berbeda signifikan hal ini disebabkan karena secara fisiologis luka pada hari kedelapan baru memasuki fase proliferasi. Oleh sebab itu, pada kontrol negatif peningkatan jumlah fibroblas tidak signifikan terhadap kontrol positif. Sedangkan K3 yang memiliki jumlah fibroblas dengan rata-rata cukup tinggi pada hari kedelapan disebabkan karena kandungan VCO yang mampu mempersingkat fase inflamasi dan sekaligus bertugas meningkatkan fase proliferasi luka sehingga jumlah fibroblas cukup tinggi di hari kedelapan.

Fibroblas merupakan sel utama selama fase proliferasi yang berperan dalam menyediakan matriks ekstraseluler sebagai kerangka untuk migrasi keratinosit. Tingginya jumlah rata-rata sel fibroblas pada K3 menunjukkan bahwa terapi VCO yang diberikan 1x sehari mampu meningkatkan proses penyembuhan luka pada fase proliferasi. Peningkatan jumlah fibroblas pada K3 disebabkan karena VCO memiliki kandungan asam lemak yang merupakan molekul bioaktif dan mampu memodulasi proliferasi sel maupun *growth factor*. Jumlah fibroblas yang lebih banyak pada K3 akan menyebabkan K3 mengalami epitelisasi yang lebih cepat dibandingkan dengan kelompok lain. Fibroblas akan mampu menghasilkan kolagen, glikosaminoglikan, serat elastin, glikoprotein yang akan membentuk matriks ekstraseluler. Sel fibroblas yang lebih padat akan membantu pembentukan matriks ekstraseluler yang lebih padat dan kompak sehingga memicu proses epitelisasi oleh keratinosit (Gurtner, 2007).

Tingginya fibroblas pada K3 juga disebabkan karena peran VCO yang sangat kompleks dalam membantu proses penyembuhan luka terutama dalam memodulasi *growth factor* yang terdiri dari *platelet-derived growth factor* (PDGF), *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), *epidermal growth factor* (EGF), *fibroblast growth factor* (FGF), dan *transforming growth factor- β* (TGF- β). *Growth factor* tersebut mampu merangsang pertumbuhan dan proliferasi dari sel luka seperti keratinosit dan fibroblas. Hal ini menyebabkan jumlah sel fibroblas mengalami peningkatan pada K3 dibandingkan dengan kelompok lainnya. Sehingga tingginya sel fibroblas pada K3 menunjukkan bahwa terapi VCO pemberian 1x sehari mampu meningkatkan penyembuhan luka lebih cepat dibandingkan dengan pemberian VCO 2x sehari dan 3x sehari.

5.3 Pengaruh Terapi Virgin Coconut Oil (VCO) Terhadap Kadar Relatif Interleukin-1 (IL-1)

Histogram hasil rata-rata ekspresi IL-1 pada jaringan kulit mencit (*Mus musculus*) model nosokomial pasca operasi yang diterapi VCO berdasarkan *flowcytometry* ditunjukkan pada **Gambar 5.9**.



Gambar 5.9 Histogram rata-rata kadar relatif IL-1 berdasarkan *flowcytometry* pada masing-masing kelompok perlakuan. K1: Kontrol negattif, K2: Kontrol positif, K3: Terapi VCO 1x sehari, K2: Terapi VCO 2x sehari, K3: Terapi VCO 3x sehari.

Berdasarkan statistika deskriptif (**Lampiran 8.3**), semua kelompok perlakuan menunjukkan nilai standar deviasi yang lebih kecil dari mean dan mencerminkan penyimpangan data yang rendah. Uji yang dilakukan setelah memperoleh hasil di atas adalah uji homogenitas dan uji normalitas untuk mengetahui apakah data di atas tergolong homogen dan normal. Berdasarkan kedua uji tersebut (**Lampiran 8.1** dan **Lampiran 8.2**), data hasil di atas tergolong homogen dan normal sehingga dilanjutkan ke uji one way ANOVA.

Pada uji *one way* ANOVA (**Lampiran 8.4**) diperoleh hasil nilai Sig. < 0,05, menunjukkan H_0 ditolak sehingga terdapat minimal satu kelompok yang memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan. Uji lanjutan berupa uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dilakukan untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan rata-rata yang

signifikan. Hasil dari Uji BNJ (**Lampiran 8.5**) dapat dilihat dalam **Tabel 5.2** berikut ini.

Tabel 5.2 Rata-rata presentase kadar relatif ekspresi Interleukin-1 (IL-1)

Kelompok	Kadar Relatif IL-1 (Mean \pm SD)
K1 (Kontrol Positif)	30,9 \pm 11,7 ^b
K2 (Kontrol Negatif)	20,5 \pm 2,3 ^{ab}
K3 (Terapi VCO 1x Pemberian)	10,9 \pm 9,0 ^a
K4 (Terapi VCO 2x Pemberian)	16,0 \pm 6,4 ^a
K5 (Terapi VCO 3x Pemberian)	13,4 \pm 10,5 ^a

Kelompok kontrol positif memiliki notasi yang berbeda signifikan dengan kelompok terapi K3, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat satu kelompok yang berbeda, yaitu kontrol positif dengan rata-rata terbesar. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan K3 merupakan perlakuan yang memiliki efek terapi berupa penurunan kadar relatif IL-1 pada kelompok mencit luka insisi model nosokomial. Sedangkan antara kelompok terapi K3, K4 dan K5 tidak memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan. Hal ini disebabkan karena frekuensi pemberian terapi VCO yang cukup pendek antara 1x, 2x dan 3x pemberian dalam sehari.

Kelompok mencit kontrol positif menunjukkan kadar relatif IL-1 yang lebih tinggi dan perbedaan rata-rata yang signifikan ($\alpha < 0,05$) dari kelompok mencit negatif (**Tabel 5.2**). Tingginya kadar relatif IL-1 pada kelompok mencit kontrol positif terjadi akibat adanya infeksi nosokomial *S. aureus* pada luka insisi. Infeksi bakteri *S.*

aureus akan meningkatkan respon inflamasi serta mengaktivasi imunitas *innate* maupun adaptif. Pada imunitas *innate* *S. aureus* akan dieliminasi oleh netrofil dan makrofag. Selain itu makrofag juga dapat berperan sebagai *antigen presenting cells* (APC). Di dalam makrofag, bakteri akan difagositosis dan juga akan dikenali oleh MHC II, kemudian akan dipresentasikan dalam bentuk antigen peptida. Selanjutnya, MHC II akan berikatan dengan limfosit T helper (CD4) pada bagian T Cell Receptor (TCR). Sel T CD4+ yang teraktivasi akan kehilangan CD62L dan mengekspresikan berbagai molekul permukaan seperti CD25, CD44, CD69 yang bertujuan untuk melawan dan meregulasi aktivitas sel efektor yang teraktivasi akibat adanya paparan antigen bakteri *S. aureus*. Kemudian sel T CD4+ efektor akan mensekresikan IFN- γ yang berfungsi sebagai aktivasi makrofag, fagositosis, dan killing bakteri. Sel T CD4+ akan menghasilkan sitokin yang mengakibatkan aktivasi sel T sitotoksik (CD8+) dan sel T reg (CD4+CD25+).

Secara normal, kadar relatif IL-1 akan menurun pada hari ketujuh pasca terbentuknya luka. Namun pada kontrol positif kadar IL-1 masih cukup tinggi pada hari kedelapan. Hal ini menunjukkan bahwa luka masih berada pada fase inflamasi. Kondisi luka dengan fase inflamasi yang cukup panjang akan membuat fase proliferasi dan fase remodeling juga terhambat. Akibatnya proses penyembuhan luka juga terhambat dan waktu yang diperlukan untuk penutupan luka juga akan semakin lama. Infeksi luka pada kondisi dimana IL-1 yang masih tinggi pada hari kedelapan mampu mengarahkan perkembangan luka menjadi luka infeksi kronis. Hal ini juga didukung dengan faktor-faktor kesembuhan luka yang lain seperti usia, maupun nutrisi.

Berdasarkan **Tabel 5.2**, semua kelompok terapi VCO mengalami penurunan kadar relatif IL-1 yang signifikan terhadap kontrol positif. Pada ketiga kelompok terapi, menunjukkan bahwa penurunan yang paling signifikan yaitu terjadi pada kelompok terapi VCO pemberian 1x sehari dengan rata-rata jumlah kadar relatif IL-1 yang paling sedikit.

Penurunan kadar relatif IL-1 pada penelitian ini didukung oleh sifat VCO sebagai anti-inflamasi dan antibakteri (Varma *et al.*, 2017). Adanya asam lemak monogliserida mampu meningkatkan penghambatan bakteri melalui proses hidrolisis parsial maupun enzimatis (*lypozime*) (Loung *et al.*, 2014). Selain itu VCO mampu mengganggu aktivitas asam basa bakteri dan meningkatkan sel T sehingga mempercepat produksi antibodi.

VCO mampu menghambat TLR4 pada tingkat mRNA dan menghambat fosforilasi dan translokasi NF- κ B p65 dengan memodulasi pensinyalan TLR-NF- κ B pada jalur kanonikal/klasikal (Vysakh *et al.*, 2014). Terhambatnya translokasi pada NF- κ B p65 mengakibatkan transkripsi tingkat gen juga tidak terbentuk sehingga tidak dihasilkan sitokin berupa IL-1, IL-6, IL-8 serta mampu menghambat mediator inflamasi seperti *histamine*, 5-HT, kinin dan prostaglandin. Terhambatnya *histamine* mampu menurunkan peningkatan permeabilitas vaskuler. Terhambatnya kinin juga memberikan pengaruh dalam menurunkan permeabilitas vaskuler, vasokonstriksi, dan menurunkan rasa nyeri. Terhambatnya prostaglandin menyebabkan vasokonstriksi vaskuler sehingga akan sulit dilalui oleh larutan protein yang berupa koloid. Penurunan permeabilitas tersebut menyebabkan penurunan jumlah cairan yang keluar dari pembuluh darah kapiler sehingga tidak terbentuk edema. Fase inflamasi yang

menurun akan mempercepat terjadinya fase proliferasi. Pada fase proliferasi, VCO juga mampu mempercepat proliferasi sehingga fase remodeling terbentuk dan luka menutup lebih cepat.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Kelompok K3 mampu menurunkan kadar relatif *Interleukin-1* (IL-1) pada jaringan kulit mencit (*Mus musculus*) model nosokomial dengan jumlah rata-rata sebesar 10.9.
2. Kelompok K3 mampu meningkatkan jumlah sel fibroblas pada jaringan kulit mencit (*Mus musculus*) model nosokomial dengan jumlah rata-rata sebesar 5.5.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan studi lebih lanjut serta penerapan VCO terhadap penyembuhan luka nosokomial khususnya pada pasien rumah sakit secara langsung.
2. VCO pemberian 1x sehari dapat digunakan sebagai alternatif terapi khususnya dalam bidang kedokteran hewan dalam menangani infeksi nosokomial karena mampu mempercepat penyembuhan luka.

DAFTAR PUSTAKA

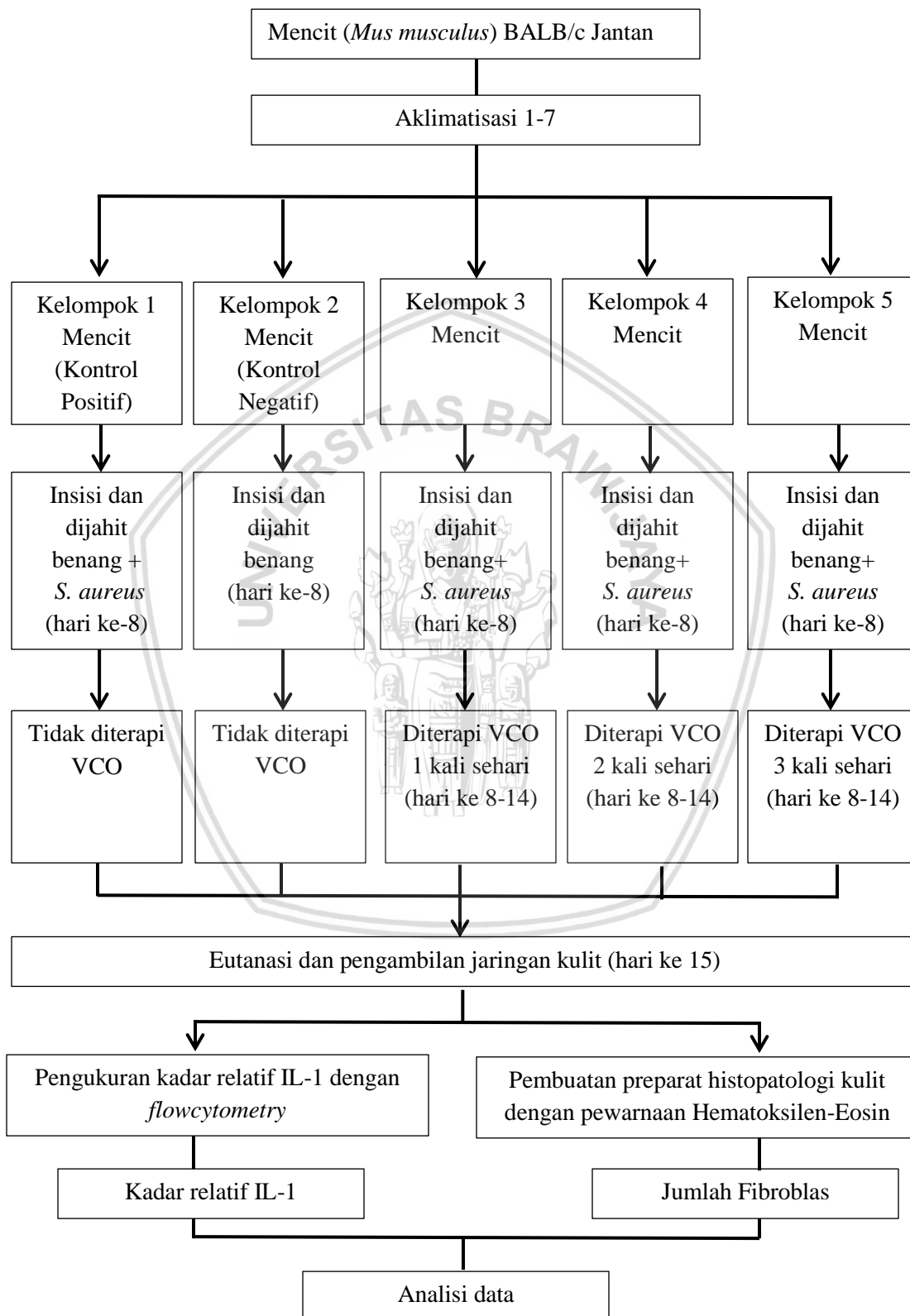
- Abbas AK, Lichman, AH. 2005. *Basic Immunology: Function and Disorder of The Immun System*. China: Elsevier. Pp 134-349.
- Balqis, U., Rasmaidar, Marwiyah. 2014. Gambaran Histopatologis Penyembuhan Luka Bakar Menggunakan Daun Kedondong (*Spondias dulcis* F.) Dan Minyak Kelapa pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medika Veterinarian* 8 (1): 31-34.
- Budhi, A. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Chu, D. H. 2008. *Overview of biology, development, and structure of skin*. In K. Wolff, L. A. Goldsmith, S. I. Katz, B. A. Gilchrest, A. S. Paller, & D. J. Leffell (Eds.), *Fitzpatrick's dermatology in general medicine* 7th ed., pp. 57Y73. New York: McGraw-Hill.
- Contassot, E., H. Beer, L. E. French. 2012. Interleukin-1, inflammasomes, autoinflammation and the skin. *Swiss Med Wkly* 142:1-10.
- Falanga, V., dan Kerdel FA. 2004. Split-thickness Skin Grafting of Leg Ulcers. The University of Miami Department of Dermatology's Experience . *Dermatol Surgery* vol. 21: 701.
- Fawcett, Don W. *Buku Ajar Histologi Edisi12*. Alih bahasa oleh Jan Tambayong. 2002. Jakarta: EGC.
- Gurtner, GC. 2007. *Wound Healing, Normal and Abnormal*. Grabb and Smith's Plastic Surgery 6th edition, p: 15-22.
- Horran, T.C., M. Andrus, M. A. Dudeck. 2008. CDC/NHSN Surveillance Definition of Health Are-Associated Infection and Criteria for Specific Types of Infections in the Acute Care Setting. *Am. J. Infect. Control*. 36(5): 309–332.
- Intahphuak, S., P. Khonsung, dan A. Panthong. 2009. Anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities of virgin coconut oil. 1, *Pharmaceutical Biology*, 48:2, 151-157.
- James, T.G. Berger, and D.M. Elston. 2006. *Andrews' Diseases of the Skin: Clinical Dermatology*. Philadelphia: Elsevier Saunders.
- Kalangi, Sonny J. R. 2013. Histofologi Kulit. *Jurnal Biomedik (JBM)* 5 (3): S12-20.

- Kanidakis, J. 2002. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *European Journal of Dermatology*, 12(4), 390-401.
- Kiernan, J. A. 2008. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice* 4th ed., p: 156-58.
- Krakauer, T. 2011. Comparative Potency of Green Tea and Red Wine Polyphenols in Attenuating Staphylococcal Superantigen Induced Immune Responses. *American Journal Biomedical Sciences*. 4 (2): 1579166.
- Kusumadewy, W. 2012. *Perbandingan Kadar Interleukin-1 β (IL-1 β) dalam Cairan Krevikular Gingiva Anterior Mandibula Pasien pada Tahap Awal Perawatan Ortodonti Menggunakan Braker Konvensional Pre-Adjusted MBT [TESIS]*. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Indonesia.
- Kolarsick, Paul AJ, BS, Maria Ann Kolarsick, MSN, ARHP-C Carolyn Goodwin, APRN-BC, FNP. 2011. Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses' Association* 3 (4): 203-213
- Lorentz, H. P., and Longaker, M. T. 2006. *Wound Healing: Repair Biology and Wound and Scar Treatment in Mathes, S. J. and Hentz, V. R., Plastic surgery* . Philadelphia: Saunders Elsevier, p: 209-34.
- Loung, F.S., Jansen S. dan Dwi Suryanto. 2014. Antibacterial activity of Enzymatic hydrolyzed of Virgin Coconut oil and Palm Kernel oil against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi* and *Escherichia coli*. *International Journal of PharmTech Research* 6 (2): 628-633.
- Milton, A.A.P., G. B. Priya, M. Aravind, S. Parthasarathy, M. Saminathan, K. Jeeva, R. K. Agarwal. 2015. Nosocomial infections and their surveillance in veterinary hospitals. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 3(2):1-24.
- Muliani, H. 2011. Pertumbuhan Mencit (*Mus musculus* L) Setelah Pemberian Biji Jaraj Pagar (*Jatropha curcas*) White House (*Mus musculus* L). *Growth Exposed to Barbados Nut's Seed Bioma*. 73-79.
- Morison, M. J. 2004. *Manajemen Luka*. Jakarta : EGC.
- Murhadi. 2009. Senyawa Dan Aktivitas Senyawa dan Aktivitas Ntimikroba Golongan Asam Lemak dan Esternya dari Tanaman. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian* 14 (1).

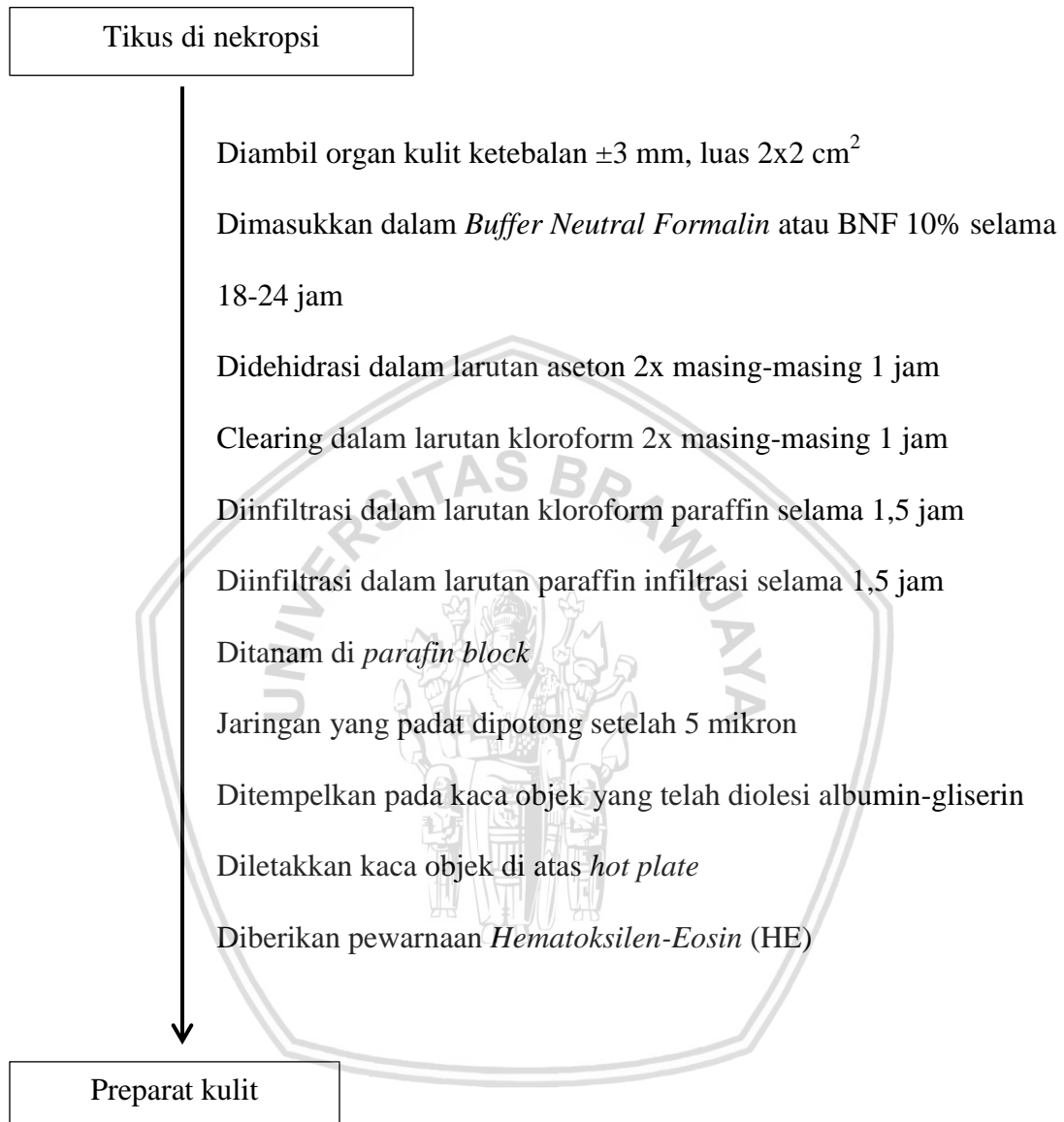
- Nurrahman dan Nurhidajah. 2015. Pengaruh Konsumsi Tempe Kedelai Hitam Terhadap Makrofag dan Kadar Interleukin 1 (IL-1) pada Tikus secara in Vitro. *Agritech* 35 (3): 294-298.
- Nasution, L. H. 2012. Infeksi Nosokomial. *MDVI* 39(1): 36-41.
- Pappa, C., Miyakis, S., Tsirakis, G., Sfiridaki, A., Alegakis, A., Kafousi, M., Stathopoulos, E.N. dan Alexandrakis, M.G. 2007. Serum levels of interleukin 15 and interleukin-10 and their correlation with proliferating cell nuclear antigen in multiple myeloma. *Cytokine* 37: 171-175.
- Pavletic, M. M. 2010. *Atlas of Small Animal Wound Management and Reconstructive Surgery*. Iowa: W.B. Saunders Company.
- Peterson. 2004. *Principle's of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2nd ed. London: BC Decker Inc.
- Plumb, D. C., 2008. *Plumb's Veterinary Drug Handbook 6th edition*. The IOWA State University Press. Ames.
- Prasetyono, Theddeus O.H. 2009. General Concept of Wound Healing, Revisited. *Ed Indones* 18 (3): 208-216.
- Qasimah, D. 2017. *Proses Produksi Virgin Coconut Oil (VCO) Menggunakan Variasi Keasaman Jeruk*. Seminar Temu Nasional Inovasi Pengelolaan, Pemanfaatan, dan Festival Sumber Genetik Lokal. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Jawa Timur.
- Rifa'I, M. 2011. *Autoimun dan Bioregulator*. Malang: UB Press. Hal 29-164.
- Salsabila, M. 2016. *Pembuatan Minyak Kelapa dengan Pengasaman (Jeruk Nipis) dan Penetralkan dengan NaCO₃ Beserta Uji Kualitasnya [Skripsi]*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.
- SNI. 2008. *Minyak Kelapa Virgin (VCO) SNI 7381 : 2008*. Badan Standarisasi Nasional.
- Suastuti, A. D. 2009. Kadar Air dan Bilangan Asam dari Minyak Kelapa yang Dibuat dengan Cara Tradisional dan Fermentasi. *Jurnal Kimia* 3(2): 69- 74.
- Tilahun, A.Y, Melissa Karau, Alessandro Ballard, Miluka P. Gunaratna, Anusa Thapa, Chella S. David, Robin Patel, dan Govindarajan Rajagopalan. 2014. The Impact of Staphylococcus aureus-Associated Molecular Patterns on

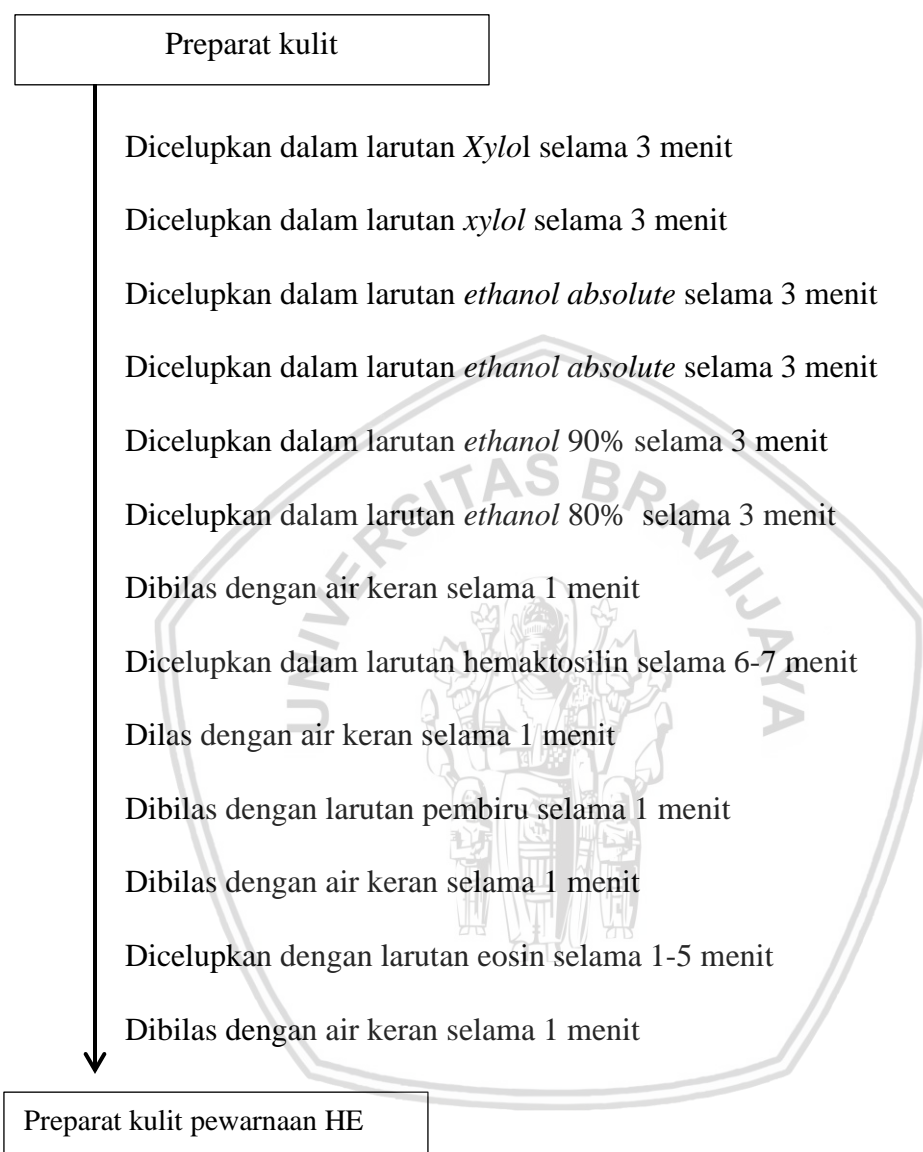
- Staphylococcal Superantigen-Induced Toxic Shock Syndrome and Pneumonia. *Mediators of Inflammation Research Article*: 13.
- Toelle, NN., dan Viktor Lenda. 2014. Identifikasi dan Karakteristik Staphylococcus Sp. dan Streptococcus Sp.dari Infeksi Ovarium Pada Ayam Petelur Komersial. *Jurnal Ilmu Ternak* 1 (7): 32-37.
- Utami, P. 2012. *Antibiotik Alami untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Jakarta:Agro Media Pustaka.
- Varma, S.R., Thiyagarajan O. Sivaprakasam, Ilavarasu Arumugam N. Dilipa, M.Raghuramana, K.B.Pavana, Mohamme, Rafiq Ranges Paramesh. 2017. In vitro anti-inflammatory and skin protective properties of Virgin coconut oil. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*.
- Vysakh, M.Ratheesh, T.P.Rajmohanam, C.Pramod, S.Premlal, B.Girish kumar, P.I.Sibid. 2014. Polyphenolics Isolated from Virgin Coconut Oil Inhibits Adjuvant Induced Arthritis in Rats Through Antioxidant and Anti-Inflammatory Action. *International Immunopharmacology Journal* 20 (1): 124-130.
- Werner, S and Grose R. 2003. Regulation of wound healing by growth factor and cytokines. *Physiol Rev* 83: 835-70.
- Widiyanti, R.A. 2015. *Pemanfaatan Kelapa Menjadi VCO (Virgin Coconut Oil) sebagai Antibiotik Kesehatan dalam Upaya Mendukung Visi Indonesia Sehat 2015*. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi 2015. Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Malang.
- Williams, J. W. dan A. Moores. 2009. *BSAVA Manual of Canine and Feline Wound Management and Reconstruction*. London: BSAVA.

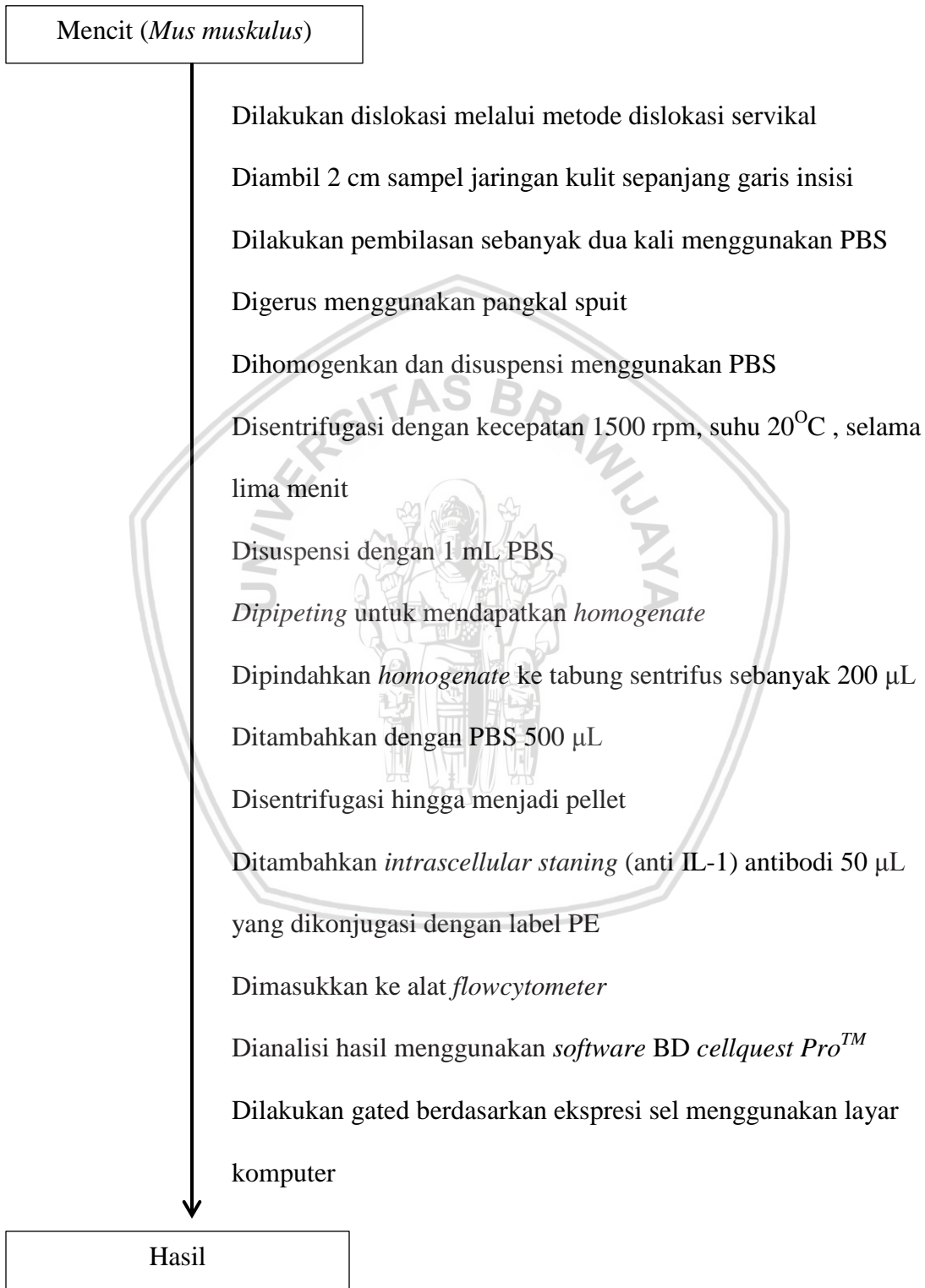
Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian

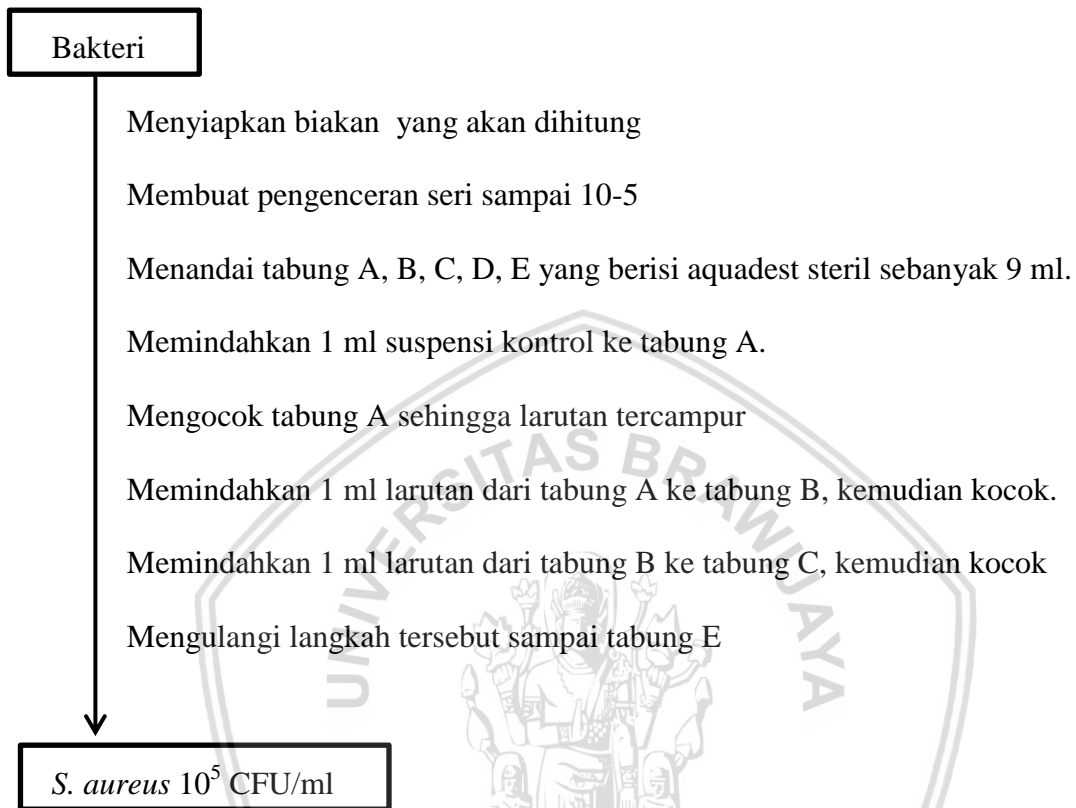


Lampiran 2. Pembuatan Preparat Histopatologi








Lampiran 3. Prosedur pewarnaan *Hematoksilen-Eosin*

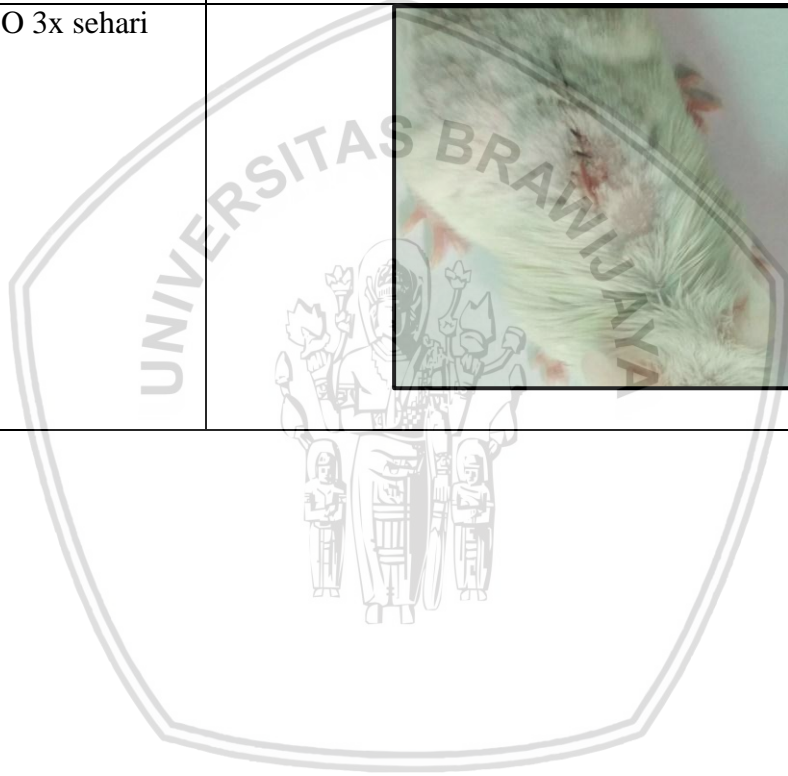
Lampiran 4. Prosedur *Flowcytometry* untuk IL-1

Lampiran 5. Pengenceran bakteri *S. aureus* 10^5 CFU/ml

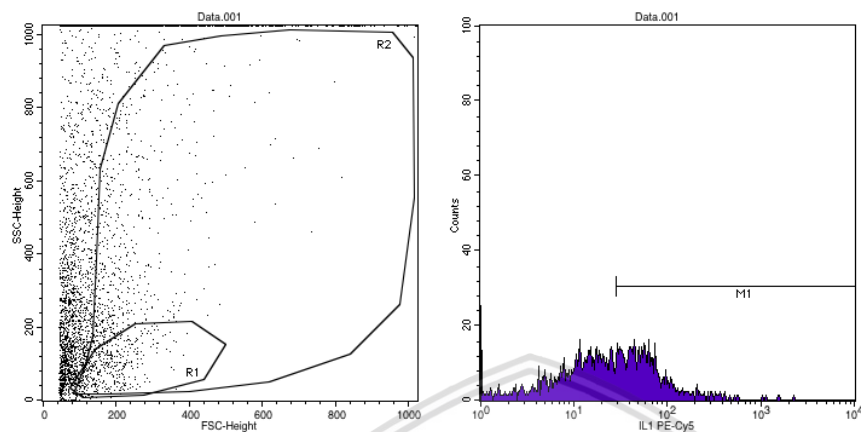
Lampiran 6. Gambaran Makroskopis Kesembuhan Luka pada Hari Kedelapan

Kelompok	Gambar
Kontrol Positif	
Kontrol Negatif	
Terapi VCO 1x sehari	

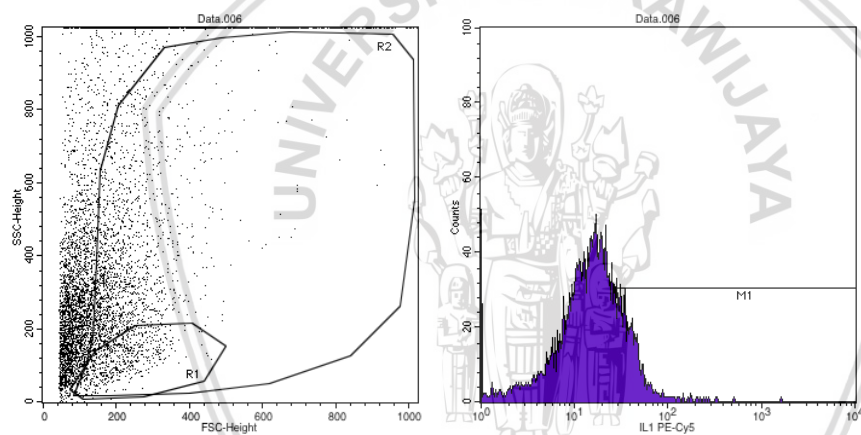
<p>Terapi VCO 2x sehari</p>			
<p>Terapi VCO 3x sehari</p>			



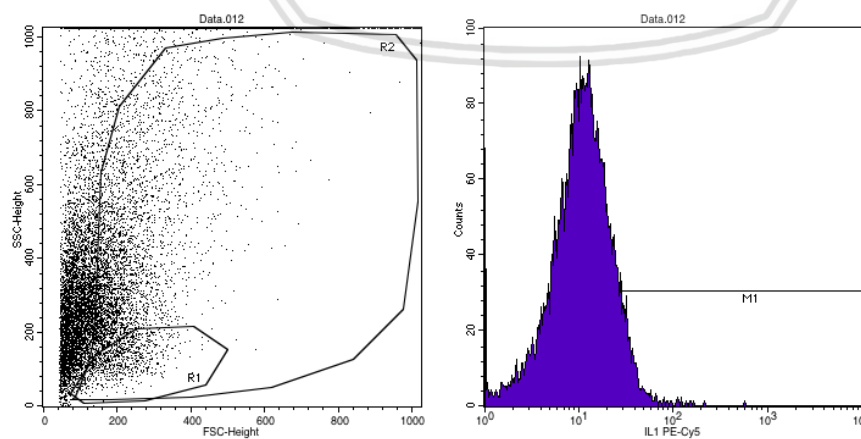
Lampiran 7. Hasil *Flowcytometry* Terhadap Kadar Relatif Interleukin-1 (IL-1)



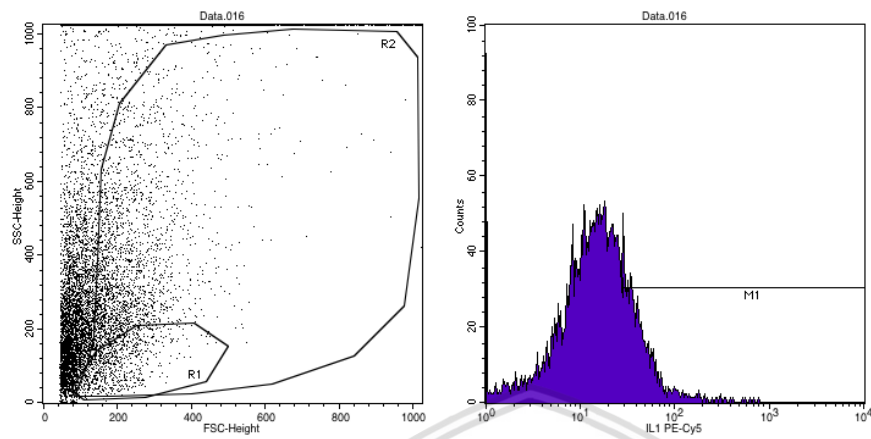
Kontrol Positif



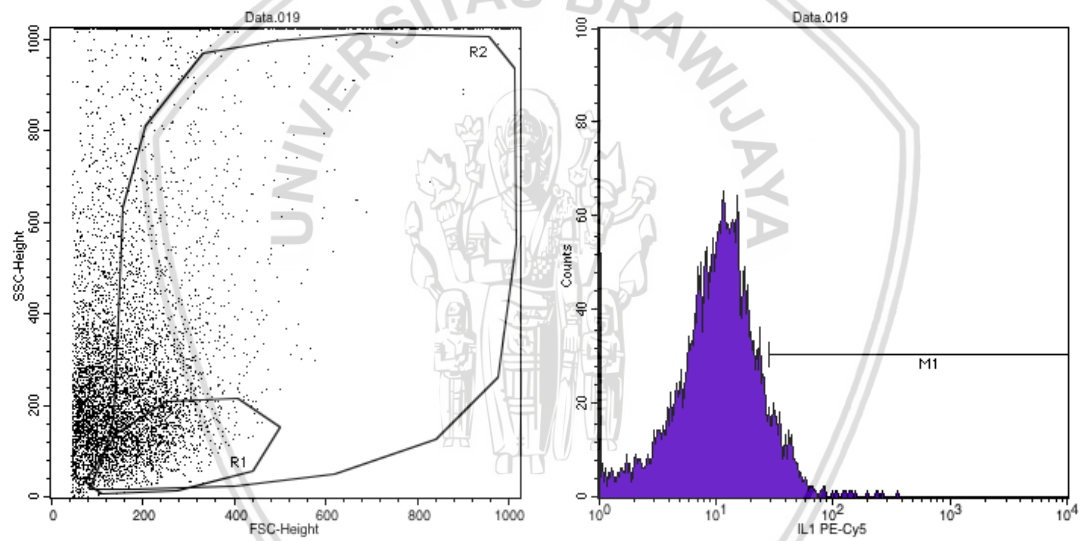
Kontrol Negatif



Terapi VCO 1x sehari



Teapi VCO 2x sehari



Terapi VCO 3x sehari

Lampiran 8. Perhitungan Statistika Jumlah Sel Fibroblas

Lampiran 8.1 Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,136	4	15	,377

Lampiran 8.2 Uji Normalitas

		Jumlah sel fibroblas
N		20
Normal Parameter ^{a,b}	Mean	3,61070
	Std. Deviation	1,072042
Most Extreme Difference	Absolute	,254
	Positive	,254
	Negative	-,153
Kolmogorov-swirnov Z		1,138
Asymp. Sig. (2 talled)		,150

a. Test distribution is Normal

b. Calculated from data

Lampiran 8.3 Deskriptif

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	2,933934	,6240004	,3120002	1,941010	3,926858	2,0494	3,4641
K2	4	3,275414	,1699636	,0849818	3,004964	3,545864	3,0984	3,4351
K3	4	5,522881	,5135338	,2567669	4,705734	6,340028	4,8990	6,0000
K4	4	3,173678	,4127484	,2063742	2,516903	3,830452	2,6833	3,6056
K5	4	3,148386	,5002212	,2501106	2,352422	3,944349	2,8983	3,8987
Total	20	3,610858	1,0719888	,2397040	3,109152	4,112565	2,0494	6,0000

Lampiran 8.4 Uji One Way ANNOVA

	Sum of squsred	df	Mean squares	F	Sig
Between Groups	1380,112	4	345,028	27,577	,000
Within Groups	187,670	15	12,511		
Total	1567,782	9			

Lampiran 8.5 Uji Post Hoc Beda Nyata Jujur Turkey

(I)Kelompok	(J)Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std.Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	K2	,341500	,332129	,839	-1,36709	,68409
	K3	-2,589000*	,332129	,000	-3,41459	-1,56341
	K4	,239750	,332129	,948	-1,26534	,78584
	K5	,214500	,332129	,965	-1,24009	,81109
K2	K1	-,341500	,332129	,839	-,68409	1,36709
	K3	-2,247500*	,332129	,000	-3,27309	-1,22191
	K4	,101750	,332129	,998	-,92384	1,12724
	K5	,127000	,332129	,995	-,85959	1,15259
K3	K1	2,247500	,332129	,000	1,22191	3,27309
	K2	2,589000*	,332129	,000	1,56341	3,61459
	K4	2,349250*	,332129	,000	1,32366	3,37484
	K5	2,374500*	,332129	,000	1,34841	3,40009
K4	K1	-,101750	,332129	,998	-1,12734	,92384
	K2	,239750	,332129	,948	-,78584	1,26534
	K3	-2,349250*	,332129	,000	-3,3748	-1,32366
	K5	,025250	,332129	1,000	-1,00034	1,05084
K5	K1	-,127000	,332129	,995	-1,15259	,89859
	K2	,214500	,332129	,965	-,81109	1,24009
	K3	-2,37400	,332129	,000	-3,40009	-1,34891
	K4	-,025250	,332129	1,000	-1,05084	1,00034

*The mean difference is significant at the ,05 level

Lampiran 9. Perhitungan Statistika Kadar Relatif IL-1

Lampiran 9.1 Uji Homogenitas

Levele statistic	df1	df2	Sig.
1,001	4	15	,438

Lampiran 9.2 Uji Normalitas

		Jumlah sel fibroblas
N		20
Normal Parameter ^{a,b}	Mean	18,3625
	Std. Deviation	10,54844
Most Extreme Difference	Absolute	,125
	Positive	,125
	Negative	-,110
Kolmogorov-swirnov Z		,559
Asymp. Sig. (2 talled)		,913

a. Test distribution is Normal

b. Calculated from data

Lampiran 9.3 Deskriptif

	N	Mean	Std.Deviation	Std.Error	95% confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K1	4	30,8875	11,72888	8,86144	12,2338	49,5412	17,77	46,29
K2	4	20,5175	2,29166	1,14583	16,8710	24,1640	19,18	23,93
K3	4	10,9975	9,03612	4,515806	-3,3810	25,3760	5,49	24,39
K4	4	13,3675	6,41101	3,20551	5,8411	26,2439	7,09	20,82
K5	4	13,3675	10,54276	5,271138	-3,4084	30,1434	5,40	28,56
Total	20	18,3625	10,54844	2,35870	13,4257	23,2993	5,40	46,29

Lampiran 9.4 Uji One Way ANNOVA

	Sum of squares	df	Mean squares	F	Sig.
Between Groups	984,381	4	246,095	3,268	,041
Within Groups	1129,740	5	75,316		
Total	2114,121	19			

Lampiran 9.5 Uji Post Hoc Beda Nyata Jujur Turkey

(I)Kelompok	(J)Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	K2	10,37	6,13661	0,468	-8,5794	29,3194
	K3	19,89000*	6,13661	0,038	0,9406	38,8394
	K4	14,845	6,13661	0,163	-4,1044	33,7944
	K5	17,52	6,13661	0,077	-1,4294	36,4694
K2	K1	-10,37	6,13661	0,468	-29,3194	8,5794
	K3	9,52	6,13661	0,548	-9,4294	28,4694
	K4	4,475	6,13661	0,946	-14,4744	23,4244
	K5	7,15	6,13661	0,77	-11,7994	26,0994
K3	K1	-19,89000*	6,13661	0,038	-38,8394	-0,9406
	K2	-9,52	6,13661	0,548	-28,4694	9,4294
	K4	-5,045	6,13661	0,92	-23,9944	13,9044
	K5	-2,37	6,13661	0,995	-21,3194	16,5794
K4	K1	-14,845	6,13661	0,163	-33,7944	4,1044
	K2	-4,475	6,13661	0,946	-23,4244	14,4744
	K3	5,045	6,13661	0,92	-13,9044	23,9944
	K5	2,675	6,13661	0,992	-16,2744	21,6244
K5	K1	-17,52	6,13661	0,077	-36,4694	1,4294
	K2	-7,15	6,13661	0,77	-26,0994	11,7994
	K3	2,37	6,13661	0,995	-16,5794	21,3194
	K4	-2,675	6,13661	0,992	-21,6244	16,2744

*The mean difference is significant at the ,05 level

**Lampiran 10. Uji Sensitivitas Antibiotik *S. aureus* berdasarkan standar
EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility
Testing**

Antibiotik	Diameter	Acceptable Zone Diameter (mm) Standard	Hasil
Peinisilin G	1 cm	12-18 mm	Susceptable
Gentamicin	0,8 mm	30-24 mm	Resisten
Metronidazole	0 mm	≥ 15 mm	Resisten
Vancomycin	0 mm	17-21 mm	Resisten
Cefotaxime	2,5 cm	25-31 mm	Susceptable
Ampicilin/Sulbactam	1,5 mm	27-35 mm	Resisten
Colistin	0 mm	11-17 mm	Resisten

Lampiran 11. Sertifikat Laik Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 846-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL	: STUDI TERAPI VIRGIN COCONUT OIL (VCO) DARI JERUK TERHADAP LUKA INSISI HEWAN MODEL NOSOKOMIAL DILIHAT DARI EKSPRESI IL-1 DAN JUMLAH FIBROBLAS
PENELITI	: FITRI INDAH PERMATASARI
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT	: UNIVERSITAS BRAWIJAYA
DINYATAKAN	: LAIK ETIK

Malang, 2 Januari 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya




Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES
NIP. 19600903 198802 2 001